



Aalto-yliopisto
Kemian tekniikan
korkeakoulu

Kemian tekniikan korkeakoulu
Kemian tekniikan koulutusohjelma

Carsten Mecke

LIGNIINI AROMAATTISTEN KEMIKAALIEN LÄHTEENÄ

Diplomityö, joka on jätetty opinnäytteenä tarkastettavaksi diplomi-insinöörin tutkintoa varten Espoossa 31.8.2016.

Valvoja

Professori Ari Koskinen

Ohjaaja

Filosofian tohtori Pekka Joensuu

Tekijä Carsten Mecke		
Työn nimi Ligniini aromaattisten kemikaalien lähteenä		
Laitos Kemian laitos		
Professori Orgaaninen kemia	Professuurikoodi KE-4	
Työn valvoja Professori Ari Koskinen		
Työn ohjaaja(t)/Työn tarkastaja(t) FT Pekka Joensuu		
Päivämäärä 31.8.2016	Sivumäärä 82+8	Kieli suomi

Tiivistelmä

Tämän diplomityön tarkoituksena oli vertailla erilaisia kuparikatalyyttejä ja lisäaineita ligniinin β -O-4-malliaineiden katalyyttisessä kupari-TEMPO-hapetuksessa.

Ligniini on runsaasti aromaattisia ryhmiä sisältävä luonnonpolymeeri, jota saadaan kasviperäisestä biomassasta. Paperi- ja sellutehtaat tuottavat vuosittain n. 50 miljoonaa tonnia ligniiniä, ja suurin osa siitä käytetään polttoaineena tehtaiden energiantuotannossa. Ligniini saataisiin kuitenkin huomattavasti tehokkaammin hyödynnettyä käyttämällä sitä aromaattisten kemikaalien lähteenä. Toisaalta ligniinin epäsäännöllinen rakenne ja sen erotuksessa tapahtuvat rakenteelliset muutokset vaikeuttavat sen hyödyntämistä, mistä johtuen ligniinin hajotus monomeereiksi on vasta tutkimusasteella.

β -O-4-sidos on runsaslukuisin ligniinin monomeerien välisistä sidoksista, ja suuri osa tutkimuksesta on keskittynyt sen katkaisuun. Usein tutkimuksissa käytetään oikean ligniinin sijaan malliaineita, joiden hajotustuotteet on helpompi analysoida. Ligniinin sidosten hajotukseen on käytetty useita menetelmiä, joihin kuuluvat mm. katalyyttiset hapetukset, pelkistykset ja hapetuspelkistysneutraalit menetelmät.

Työn kirjallisuusosassa tarkastellaan ligniinin rakennetta ja ominaisuuksia, sen erotukseen käytettyjä menetelmiä, sen käyttökohteita sekä sen sidosten hajottamiseen kehitettyjä menetelmiä. Lisäksi kirjallisuusosassa tarkastellaan yksityiskohtaisemmin kupari-TEMPO-katalyyttien käyttöä sekä alkoholien että ligniinin malliaineiden hapetuksessa.

Työn tutkimusosassa valmistettiin kaksi β -O-4-malliainetta hapetuskokeita varten. Sopivan analyysimenetelmän löytäminen hapetusreaktioiden konversioiden ja saantojen määrittämiseen osoittautui vaikeaksi, ja lopulta päädyttiin käyttämään kvantitatiivista ^1H NMR -spektroskopiaa. Asetonitrilissä suoritetuissa CuCl_2 -2,2'-bipyridiini-TEMPO-hapetuksissa NaBF_4 :n havaittiin parantavan malliaineiden konversioita ja päätuotteina muodostuvien bentsaldehydien saantoja. Sen sijaan 1-metyyli-imidatsolin vaikutus vaihteli eri kokeissa.

Avainsanat ligniini, β -O-4-sidos, selluloosan keitto, kupari, TEMPO, katalyyttinen hapetus

Author Carsten Mecke		
Title of thesis Lignin as a source of aromatic chemicals		
Department Department of Chemistry		
Professorship Organic Chemistry		Code of professorship KE-4
Thesis supervisor Professor Ari Koskinen		
Thesis advisor(s) / Thesis examiner(s) Ph.D. Pekka Joensuu		
Date 31.8.2016	Number of pages 82+8	Language Finnish

Abstract

The aim of this master's thesis project was to compare different copper catalysts and additives in catalytic copper/TEMPO oxidation of lignin β -O-4 model compounds.

Lignin is a natural polymer, which contains a high number of aromatic groups and is separated from plant-based biomass. Paper and pulp mills produce annually ca. 50 million tons of lignin, which is mainly used as a fuel to produce energy for the mills. However, lignin could be much more efficiently exploited by using it as a source of aromatic chemicals. On the other hand, the irregular structure of lignin and structural changes caused by its separation processes complicate its exploitation, and consequently degradation of lignin to monomers is still at the study stage.

The β -O-4 bond is the most abundant interunit linkage in lignin, and much of the research is focused on its cleavage. In the studies model compounds are often used instead of real lignin since their degradation products are easier to analyze. Several methods have been used to degrade lignin bonds, which include catalytic oxidations, reductions and redox-neutral methods.

In the literature review of this work the structure and properties, separation processes and applications of lignin and methods developed for degrading lignin are studied. Moreover, the use of copper/TEMPO catalysts in oxidation of alcohols and lignin model compounds is studied in more detail.

In the experimental part two β -O-4 model compounds were prepared for the oxidation experiments. Finding an appropriate method for analyzing the conversions and yields of the reactions turned out to be a challenging task, and eventually quantitative ^1H NMR spectroscopy was chosen. In $\text{CuCl}/2,2'$ -bipyridine/TEMPO oxidations carried out in acetonitrile, NaBF_4 was observed to improve conversions of the model compounds and yields of the benzaldehydes forming as the major products. Instead, the effect of 1-methylimidazole varied in different experiments.

Keywords lignin, β -O-4 bond, pulping, copper, TEMPO, catalytic oxidation

Esipuhe

Tämä diplomityö tehtiin Aalto-yliopiston Kemian laitoksella professori Ari Koskisen tutkimusryhmässä. Haluan kiittää professori Ari Koskista mahdollisuudesta tehdä diplomityö ja FT Pekka Joensuuta asiantuntevasta ohjauksesta. Lisäksi haluan kiittää DI Eemil Salosta ja projektissa mukana olleita harjoittelijoita hyvästä yhteistyöstä. Kiitokset myös koko orgaanisen kemian laboratorion väelle hyvistä neuvoista ja hyvästä seurasta.

Laitoksen ulkopuolelta kiitokset perheelleni, tyttöystävälleni ja ystävilleni tuesta ja ymmärryksestä.

Espoossa 31.8.2016

Carsten Mecke

Sisällysluettelo

1 Johdanto.....	1
2 Ligniinin ominaisuuksia	3
2.1 Kemiallinen rakenne	3
2.2 Fysikaaliset ominaisuudet	6
3 Ligniinin erotusmenetelmät	6
3.1 Teolliset erotusprosessit	7
3.1.1 Sulfaattiprosessi	7
3.1.2 Sulfiittiprosessi.....	9
3.1.3 Organosolv-prosessi.....	10
3.1.4 Soodaprosessi	11
3.2 Esimerkkejä muista erotusmenetelmistä	12
3.2.1 Höyryräjäytys	12
3.2.2 Kuulamyly.....	13
3.2.3 Ioniset nesteet.....	14
4 Ligniinin käyttökohteita	15
4.1 Nykysovelluksia	15
4.2 Kemiallisen muokkauksen tarjoamat mahdollisuudet	16
5 Malliaineet	17
6 Ligniinin hajotus ja depolymerointi	18
6.1 Termokemialliset menetelmät	18
6.1.1 Pyrolyysi	19
6.1.2 Kaasutus	19
6.1.3 Emäskatalysoitu hydrolyysi	20
6.2 Pelkistykseen perustuvat menetelmät	22
6.2.1 Nikkelikatalysoitu hydrogenolyysi	22
6.2.2 Boorikatalysoitu pelkistys	25
6.3 Hapetukseen perustuvat menetelmät.....	27
6.3.1 Entsyymikatalysoitu hapetus	28
6.3.2 Siirtymämetallikatalysoitu hapetus	30
6.3.3 Organokatalysoitu hapetus	34

6.4 Hapetuspelkistysneutraalit menetelmät.....	36
7 Kupari-TEMPO-hapetukset	39
7.1 Kupari.....	40
7.2 Kupari-TEMPO-katalyyttisysteemit	40
7.3 Ligniinin malliaineiden hapetus kupari-TEMPO-katalyyttisysteemillä	45
8 Yhteenvedo ja johtopäätökset	51
9 Tutkimuksen toteutus ja tulokset.....	52
9.1 Malliaineiden valinta ja synteetit.....	52
9.2 Katalyyttisysteemin ja reaktioiden mittakaavan valinta	56
9.3 Analyysimenetelmän valinta	57
9.4 Suuren mittakaavan reaktio hapetustuotteiden tunnistamiseksi.....	59
9.5 Hapetuskokeet.....	60
10 Jatkotutkimusehdotukset	66
11 Kokeellinen osa	67
11.1 Yleistä koejärjestelyistä.....	67
11.2 Malliainesynteetit.....	69
11.3 Suuren mittakaavan hapetusreaktio.....	75
11.4 Hapetuskokeiden suoritus	76
12 Lähteet.....	77
13 Liitteet	83

Käytetyt symbolit

A	pinta-ala
M	molaarisuus (mol/dm ³)
M _n	luku keskimääräinen moolimassa (g/mol)
X	konversio
Å	ångström (1 · 10 ⁻¹⁰ m)

Käytetyt lyhenteet

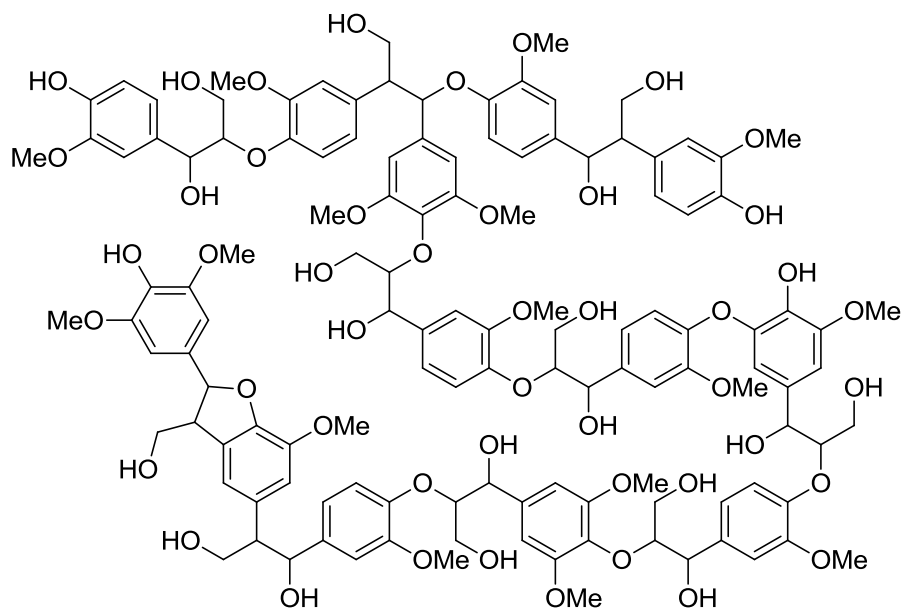
Ac	asetyyli
AmimCl	1-allyyli-3-metyyli-imidatsoliumkloridi
Ar	aryyli
bipy	2,2'-bipyridiini
[C ₂ mim][ABS]	1-etyyli-3-metyyli-imidatsoliumalkyyli-bentseenisulfonaatti
CAM	ceriumammoniummolybdaatti
COD	syklo-oktadieeni
DABCO	1,4-diatsabisyklo[2.2.2]oktaani
DBU	1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eeni
DIPA	di-isopropyliamiini
DMF	dimetyyliformamidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
Et	etyyli
Et ₂ O	dietyylieetteri
EtOAc	etyyliasettaatti
Et ₃ SiH	trietyylisilaani
GC	kaasukromatografia
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
<i>i</i> -Pr	isopropyli
LDA	litiumdi-isopropyliamiini
Lig	ligniini

LiP	ligniini-peroksidaasi
NMI	1-metyyli-imidatsoli
NMR	ydinmagneettinen resonanssi
Me	metyyli
MeCN	asetonitriili
MeOH	metanoli
2-MeTHF	2-metyylitetrahydrofuraani
MMPP	magnesiummonoperoksifalaatti
MnP	mangaaniperoksidaasi
MTBE	metyyli- <i>tert</i> -butyylieetteri
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyylilitium
Nu	nukleofiili
Ph	fenyyli
pyr	pyridiini
rt	huoneenlämpötila
SIPr·HCl	1,3-bis-(2,6-di-isopropyyli-fenyyli)imidatsoli-niumkloridi
TMDS	tetrametyylidisiloksaani
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametyylietyleenidiamiini
TMB	1,3,5-trimetoksibentseeni
TMS	trimetyylisilyyli
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyyli
<i>t</i> -BuOK	kalium- <i>tert</i> -butoksidi
<i>t</i> -BuONa	natrium- <i>tert</i> -butoksidi
<i>t</i> -BuOOH	<i>tert</i> -butyylivetyperoksidi
TEMPO	2,2,6,6-tetrametyylipiperidiini- <i>N</i> -oksidi
THF	tetrahydrofuraani
OTf	trifluorometaanisulfonaatti
TLC	ohutkerroskromatografia
VP	versatiiliperoksidaasi

1 Johdanto

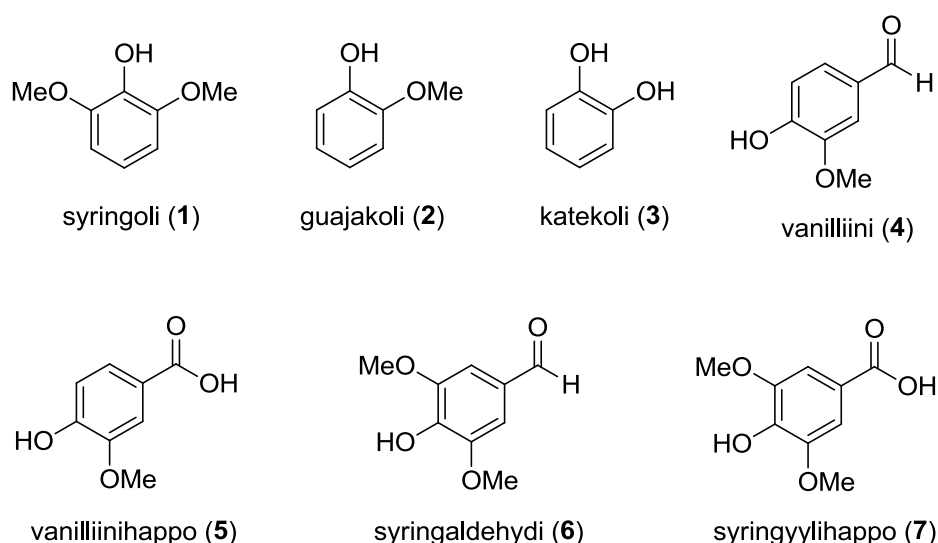
Huoli ilmastonmuutoksesta, kasvava energiankulutus ja fossiilisten polttoaineiden varastojen hupeneminen ovat synnyttäneet tarpeen löytää uusia, kestäviä vaihtoehtoja polttoaineiden, kemikaalien ja energian lähteiksi.¹ Biomassa on nykyään tärkein uusiutuvan energian lähde ja samalla ainoa uusiutuva hiilipohjainen raaka-aine, ja tulevaisuudessa se saattaa syrjäyttää raakaöljyn peruskemikaalien, liuottimien, lääkkeiden ja maatalouskemikaalien raaka-aineena.² Kasviperäinen biomassa koostuu pääosin kolmesta polymeeristä: selluloosasta, hemiselluloosasta ja ligniinistä.³

Ligniini (kuva 1) on selluloosan jälkeen toiseksi yleisin polymeeri biomassassa.⁴ Perinteisesti sitä on pidetty lähinnä paperiteollisuuden jätteenä, ja nykyäänkin suurin osa vuosittain tuotetuista noin 50 miljoonasta tonnista⁵ ligniiniä käytetään vähäarvoisena polttoaineena paperitehtaiden energiantuotannossa.⁶ Ligniini on kuitenkin ainoa runsaasti aromaattisia ryhmiä sisältävä luonnonpolymeeri ja siten kiinnostava mahdollisena aromaattisten kemikaalien lähteenä.²



Kuva 1. Ligniinipolymeeri.

Oikein suunnatuilla sidosten katkaisuilla ligniinistä voitaisiin valmistaa erilaisia fenolisia yhdisteitä, kuten esimerkiksi syringolia (1), guajakolia (2), katekolia (3), vanilliinia (4), vanilliinihappoa (5), syringaldehydiä (6) ja syringyylihappoa (7) (kuva 2),^{7,8} ja niistä hydrogenolyysillä myös BTX-kemikaaleja eli bentseeniä, tolueenia ja ksyleeniä.⁹ Näin ligniinin runsas tuotanto saataisiin nykyistä paremmin hyödynnetyksi ja samalla useiden kemikaalien synteesejä yksinkertaistetuiksi.



Kuva 2. Fenolisia tuotteita, joita ligniinistä voitaisiin valmistaa.

Tämän diplomityön kirjallisuuosassa tarkastellaan ligniinin yleisiä ominaisuuksia, sen tavallisimpien erotusprosessien kemiaa ja vaikutusta ligniinin rakenteeseen, ligniinin hyödyntämisen nykytilaa ja erilaisia mahdollisia strategioita sen hajottamiseen etupäässä aromaattisiksi kemikaaleiksi. Lisäksi tarkastellaan yksityiskohtaisemmin kupari-TEMPO-katalyyttisysteemin käyttöä alkoholien ja ligniinin malliaineiden hapetuksessa. Työn tutkimusosassa tutkittiin ligniinissä esiintyvän β -O-4-sidoksen kupari-TEMPO-hapetusta kahden itse valmistetun malliaineen avulla.

2 Ligniinin ominaisuuksia

Ligniini on yksi kolmesta maakasvien soluseinän pääkomponentista yhdessä selluloosan ja hemiselluloosan kanssa, ja sen osuus puuaineksesta on n. 15–30 %.¹⁰ Soluseinässä ligniini toimii liiman tavoin sitoen hemiselluloosan ympäröivät selluloosasäikeet toisiinsa, mikä vahvistaa soluseinää.¹¹ Samalla ligniinin muodostama tiheä verkosto suojaa hemiselluloosaa ja selluloosaa niitä hajottavien mikrobien hyökkäyksiltä.¹²

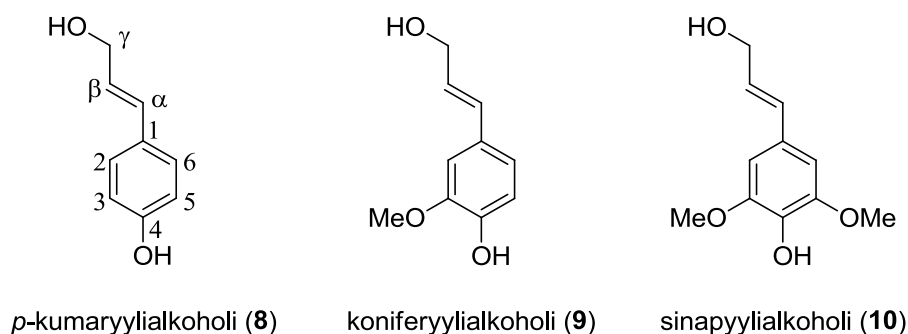
2.1 Kemiallinen rakenne

Ligniini on haaroittunut, amorfinen polymeeri, joka koostuu toisiinsa sitoutuneista aryylietteereistä.^{6,10,13} Ligniinillä ei ole samalla tavalla säännönmukaista rakennetta kuin esimerkiksi selluloosalla tai proteiineilla.¹⁴ Eri kasvilajien ja erityyppisten kasvisolujen ligniineillä on kuitenkin omat rakenteelliset tunnuspiirteensä, joiden perusteella ne eroavat toisista ligniineistä.¹⁰ Erotetun ligniinin rakenteeseen vaikuttaa vielä sen alkuperää enemmän sen erotukseen käytetty menetelmä,¹⁵ joita esitellään myöhemmin luvussa 3. Kasveissa esiintyvän eristämättömän, ns. natiivin ligniinin tarkkaa rakennetta ei ole vielä pystytty määrittämään.⁶

Erotetun ligniinin liukoisuus erilaisiin liuottimiin riippuu siinä esiintyvistä funktionaalisista ryhmistä. Kaikki erotetut ligniinit liukenevat emäksiseen veteen ja useimmat myös ainakin jonkin verran orgaanisiin liuottimiin, kuten DMSO:iin, DMF:iin, dioksaaniin ja pyridiiniin.¹⁶ Poolisena polymeerinä ligniini ei kuitenkaan liukene poolittomiin liuottimiin, kuten polyolefiineihin.¹⁷ Yleisesti pienillä ligniinimolekyyleillä on parempi liukoisuus kuin suuremmilla.¹⁸

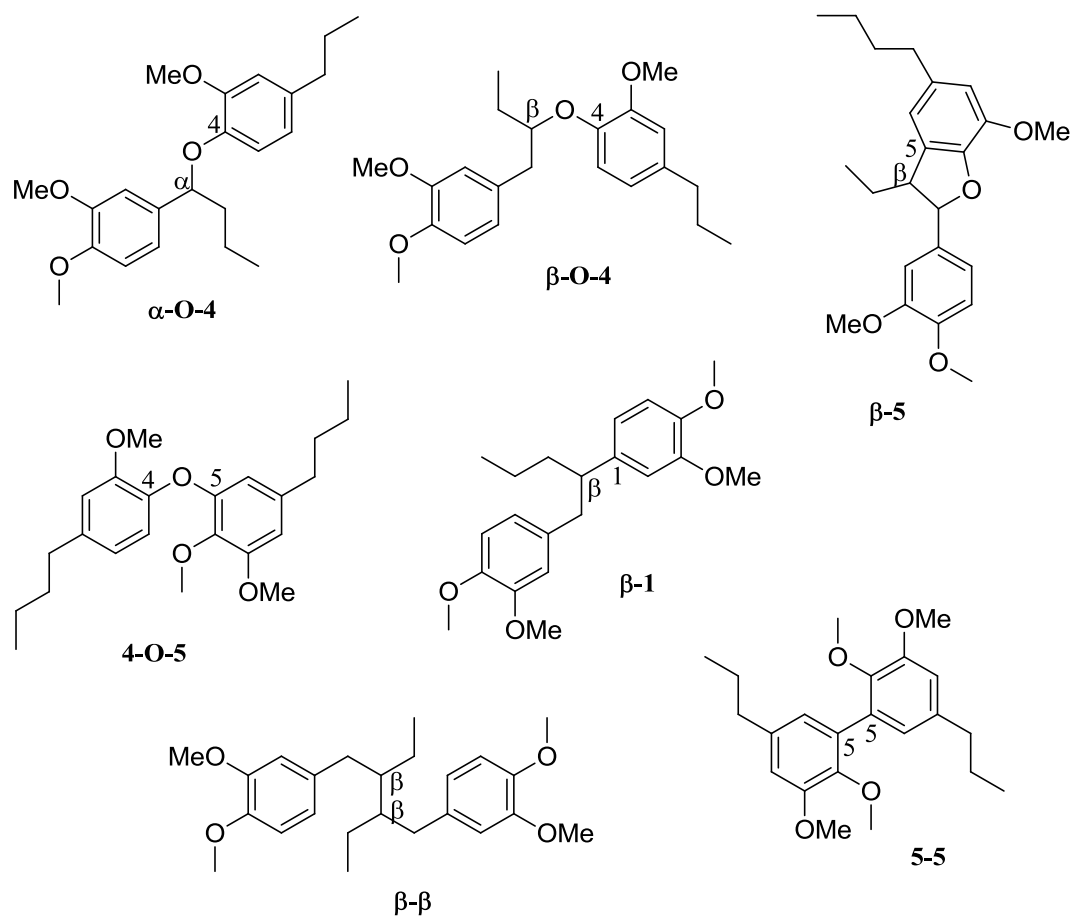
Luonnossa ligniini rakentuu pääosin kolmenlaisista *p*-hydroksisinnamyyli-alkoholeista eli *p*-kumaryyli- (**8**), koniferyyli- (**9**) ja sinapyylialkoholeista (**10**), joita kutsutaan monolignoleiksi (kuva 3).¹⁹ Ruoholigniinissä esiintyy kaikkia edellä mainittuja monolignoleja, havupuuligniinissä etupäässä

koniferyylialkoholeja ja lehtipuuligniinissä sekä koniferyyli- että sinapyylialkoholeja. Monolignolit voivat kiinnittyä toisiinsa useilla eri tavoilla sekä C-C- että C-O -sidoksin, ja juuri tämä seikka aiheuttaa ligniinin rakenteen epäsäännöllisyyden.¹⁰ Tärkeimmät ligniinissä esiintyvät monolignolien väliset sidokset on esitetty kuvassa 4,²⁰ ja esimerkit niiden osuuksista havu- ja lehtipuuligniinissä on esitetty taulukossa 1.²¹



Kuva 3. Ligniinin monomeerit eli monolignolit.

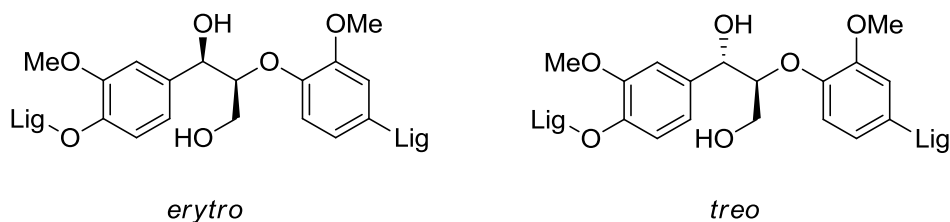
Monolignolien liittyessä yhteen syntyy uusia stereokeskuksia, mutta varsinaisen ligniinipolymeerin uskotaan olevan optisesti inaktiivisessa muodossa.²² β -O-4-sidos on ligniinin monolignolien välisistä sidoksista runsaslukuisin.¹⁶ Sen yhteydessä esiintyy yleensä sekundäärinen bentsyylinen α -alkoholi ja primäärinen alifaattinen γ -alkoholi. β -O-4-sidos esiintyy ligniinissä kahtena diastereomeerina, *erythro*- ja *treo*-muotoina (kuva 5),²³ joiden välinen jakauma vaihtelee ligniinin tyypin mukaan.²⁴ Esimerkiksi kuusen ligniinissä *erythro*- ja *treo*-diastereomeerejä esiintyy yhtä paljon, kun taas koivun ligniinissä *erythro*-muodot ovat hallitsevia.²⁴



Kuva 4. Yleisimmät ligniinissä esiintyvät monolignolien väliset sidostyypit.

Taulukko 1. Esimerkit tärkeimpien sidostyyppien prosenttiosuuksista havu- ja lehtipuuligniinissä.

Sidos	Havupuuligniini	Lehtipuuligniini
β-O-4	48	60
β-5	9–12	6
α-O-4	6–8	6–8
5-5	9,5–11	4,5
4-O-5	3,5–4	6,5
β-1	7	7
β-β	2	3



Kuva 5. β -O-4-sidoksen *erythro*- ja *treo*-diastereomeerit.

2.2 Fysikaaliset ominaisuudet

Ligniini on termoplastinen aine, mikä tarkoittaa, että sillä on lasittumislämpötila, jonka yläpuolella polymeeri on muovattavissa. Dynaamismekaanisella termoanalyysillä natiivin ligniinin lasittumislämpötilaksi on mitattu lehtipuilla 65–85 °C ja havupuilla 90–105 °C.¹⁶ Erotetun ligniinin lasittumislämpötila vaihtelee suuresti, ja siihen vaikuttavat mm. ligniinin erotukseen käytetty menetelmä, ligniiniin sitoutuneen veden määrä ja ligniinin molekyylipaino.²⁵ Lasittumislämpötilan mittaaminen on usein vaikeaa ligniinin epäsäännöllisestä rakenteesta ja vaihtelevasta molekyylipainosta johtuen.⁴ Ligniinillä on laaja hajoamislämpötila, koska sen erilaisten funktionaalisten ryhmien sidokset katkeavat eri lämpötiloissa. Polymeerirakenteen hajoaminen alkaa n. 200–275 °C:n lämpötilassa, ja varsinainen päänajoamisprosessi tapahtuu n. 400 °C:n lämpötilassa.¹³ Ligniinin termistä hajotusta tarkastellaan myöhemmin luvussa 6.1.

3 Ligniinin erotusmenetelmät

Natiivin ligniinin verkostomaisen rakenteen vuoksi sitä on käytännössä mahdotonta eristää ehjänä muusta lignoselluloosasta. Ligniinin erotuksen ensimmäinen vaihe onkin ligniinipolymeerin pilkkominen pienempiin osiin. Ligniinin hyvän biologisen ja kemiallisen kestävyys²⁶ takia tähän pilkkomiseen tarvitaan yleensä melko rajut olosuhteet. Pilkkomisen jälkeen ligniini erotetaan

muusta kasviaineksesta uuttamalla. Ligniinin lähteenä voidaan käyttää mm. puuta, yksivuotiskasveja ja viljelyjätteitä.⁴

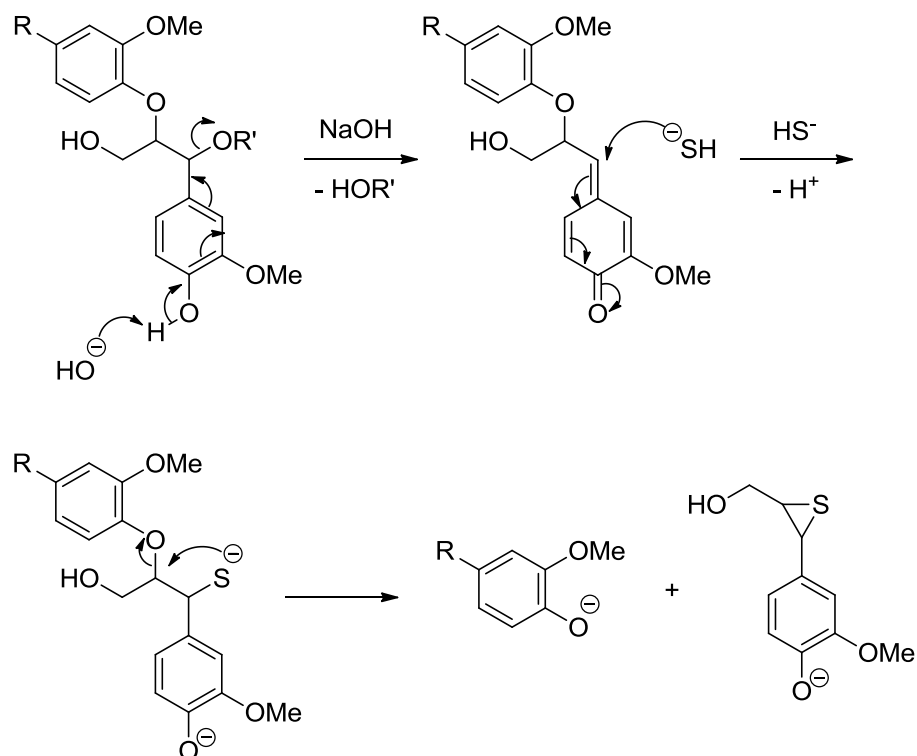
3.1 Teolliset erotusprosessit

Nykyään ligniiniä tuotetaan teollisessa mittakaavassa sekä paperi- ja sellutehtaissa että biojalostamoissa.²⁷ Ligniinin erotukseen käytetään neljää erilaista teollista keittoprosessia; sulfaatti- eli kraft-prosessia, sulfiittiprosessia, organosolv-prosessia ja soodaprosessia,²⁸ joista kahta ensimmäistä käytetään eniten.²⁹ Seuraavaksi tarkastellaan näitä prosesseja lähemmin.

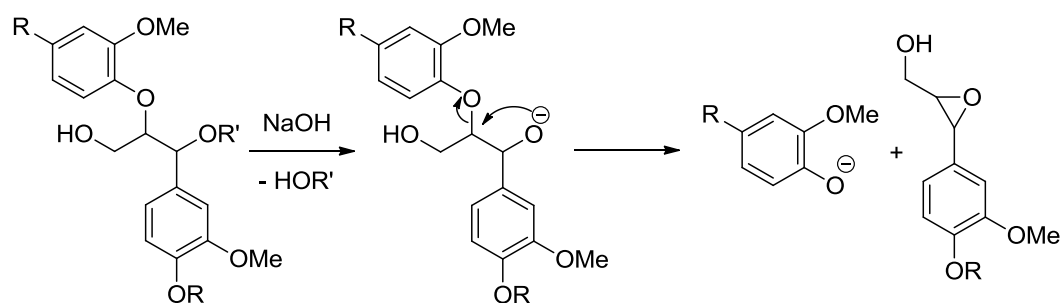
3.1.1 Sulfaattiprosessi

Yli 120 vuotta vanha sulfaattiprosessi on yhä maailmanlaajuisesti eniten käytetty sellunkeittoprosessi, ja sillä tuotetaan enemmän sellua kuin muilla prosesseilla yhteensä.^{30,31} Sulfaattiprosessissa puulastuja lämmitetään natriumhydroksidin ja -sulfidin vesiliuoksessa n. 70 °C:sta 170 °C:een, jossa niitä keitetään 1–2 h.³² Käsittelyssä ligniinipolymeeri pilkkoutuu α - ja β -aryylieetterien kohdalta pienempiin osiin, jotka liukenevat emäksiseen (pH = 13) keittoliemeen pilkkoutumisessa muodostuneiden fenolisten hydroksyyliyhmiensä ansiosta.^{4,16,20} Tällä tavalla puuaineksen ligniinistä saadaan erotettua 80–95 %.³³

Ligniinin pilkkoutumisen uskotaan tapahtuvan pääosin kahdella eri mekanismilla.³¹ Kun aryylirenkassa on vapaa fenolinen hydroksyyliyhmiä, muodostuu ensin kinonimetidi, ja samalla α -substituentti – hydroksyyli-, alkoksyyli- tai fenoksyyliyhmiä – eliminoituu (kaavio 1).¹⁶ Eliminoituneen substituentin tilalle hyökkää vetysulfidi-ioni, minkä jälkeen tapahtuvassa sykliisaatioreaktiossa β -O-4-sidos katkeaa, ja uusi vapaa fenolinen hydroksyyliyhmiä muodostuu. Kun aryylirenkassa on fenolinen eetteriyhmiä, α -substituentin mahdollinen substituutio tapahtuu hitaasti, eivätkä sulfidi-ioni osallistu reaktioon (kaavio 2).³¹



Kaavio 1. Sulfaattiprosessin mekanismi kun arylirenkaassa on vapaa fenolinen hydroksyyliiryhmä.



Kaavio 2. Sulfaattiprosessin mekanismi kun arylirenkaassa on fenolinen eetteriryhmä.

Sulfaattiprosessissa tapahtuu myös haitallisia sivureaktioita. Osa ligniinin pilkkoutumisesta syntyneistä reaktiivisista välituotteista liittyy uudelleen yhteen kondensaatioreaktioissa, joissa syntyneitä inerttejä C-C-sidoksia on C-O-sidoksia

vaikeampi katkaista ja joissa muodostuneet suuret molekyylit ovat pienempiä molekyylejä niukkaliukoisempia.³⁴ Samalla ligniinin rakenne muuttuu huomattavasti alkuperäisestä.²

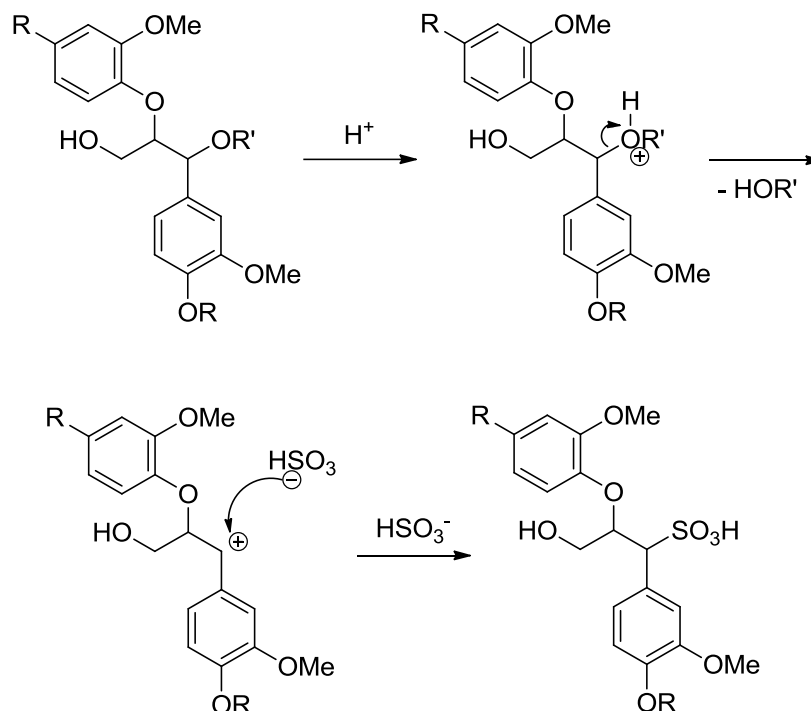
Liennut ligniini saostetaan keittoliemestä eli mustalipeästä sen pH:ta muuttamalla ja kerätään talteen.³⁵ Tuotteena saatavassa sulfaattiligniinissä β -O-4-sidosten määrä on voimakkaasti vähentynyt,³⁶ ja se sisältää 1–1,5 m-% rikkiä alifaattisten tioliryhmien muodossa.^{15,16} Sulfaattiligniinin lukukeskimääräinen moolimassa M_n on yleensä 1000–3000 g/mol ja polydispersiteetti 2,5–3,5.⁴ Sulfaattiprosessi on yksinkertainen ja nopea tapa erottaa ligniiniä, mutta se vaatii korkean lämpötilan ja paineen sekä suuria määriä kemikaaleja ja vettä.^{30,32}

3.1.2 Sulfiittiprosessi

Sulfiittimenetelmässä ligniiniä uutetaan puuaineksesta sulfiittien tai vetysulfiittien vesiliuoksessa. Prosessi voidaan suorittaa useissa erilaisissa olosuhteissa, joita on esitelty taulukossa 2.²² Keittoprosessin aikana ligniini pilkkoutuu pienempiin osiin α -aryylieetterien ja myös α -alkoholien korvautuessa sulfonaatti-ioneilla nukleofiilisissä substituutioreaktioissa (kaavio 3).¹⁶ Happamissa olosuhteissa β -O-4-sidokset ovat melko stabiileja ja säilyvät hyvin, kun taas emäksisissä olosuhteissa nekin katkeavat. Lisäksi myös sulfiittiprosessissa tapahtuu haitallisia kondensaatioreaktioita reaktiivisten välituotteiden välillä.³⁴

Taulukko 2. Sulfiittiprosesseissa käytettyjä olosuhteita.

Prosessi	Reagoivat aineet	pH	Lämpötila (°C)
Happosulfiitti	$\text{SO}_2/\text{HSO}_3^-$	1–2	125–145
Vetysulfiitti	HSO_3^-	3–5	150–175
Neutraali vetysulfiitti	$\text{HSO}_3^-/\text{SO}_3^{2-}$	6–7	150–175
Alkalisulfiitti/antrakinoni	Na_2SO_3	9–13	50–175



Kaavio 3. Happamissa olosuhteissa tapahtuvan sulfiittiprosessin reaktiomekanismi.

Sulfiittiprosessin tuotteina saatavat lignosulfonaatit ovat vesiliukoisia hydrofiilisten sulfonaattiryhmiensä ansiosta.²² Lignosulfonaattien molekyylipaino korkeampi kuin sulfaattiligniinin (M_n yleensä 15 000–50 000 g/mol), ja niiden polydispersiteetti vaihtelee välillä 6–8.⁴ Lignosulfonaattien rikkipitoisuus on n. 4–8 %.¹⁶ Sulfiittiligniiniä valmistetaan yleensä kalsium-, magnesium- tai ammoniumsuoloina.²²

3.1.3 Organosolv-prosessi

Rikkiyhdisteisiin perustuvien sulfaatti- ja sulfiittiprosessien haittapuolena on, että ne saastuttavat ilmaa ja vesistöjä. Organosolv-prosessi on huomattavasti em. prosesseja ympäristöystävällisempi, mistä johtuen se on herättänyt kiinnostusta jo 1970-luvulta lähtien.³⁷ Organosolv-prosessissa käytetään jotakin orgaanista liuotinta, tavallisesti 30–70-prosenttista etanolin vesiliuosta, 150–190 °C:n

lämpötilassa liuottamaan ligniini ja hemiselluloosa puuaineksesta selluloosan jäädessä lähes koskemattomaksi.³⁸ Monissa liuotinyhdistelmissä käytetään emäksistä tai hapanta vesiliuosta prosessin nopeuttamiseksi.³⁵

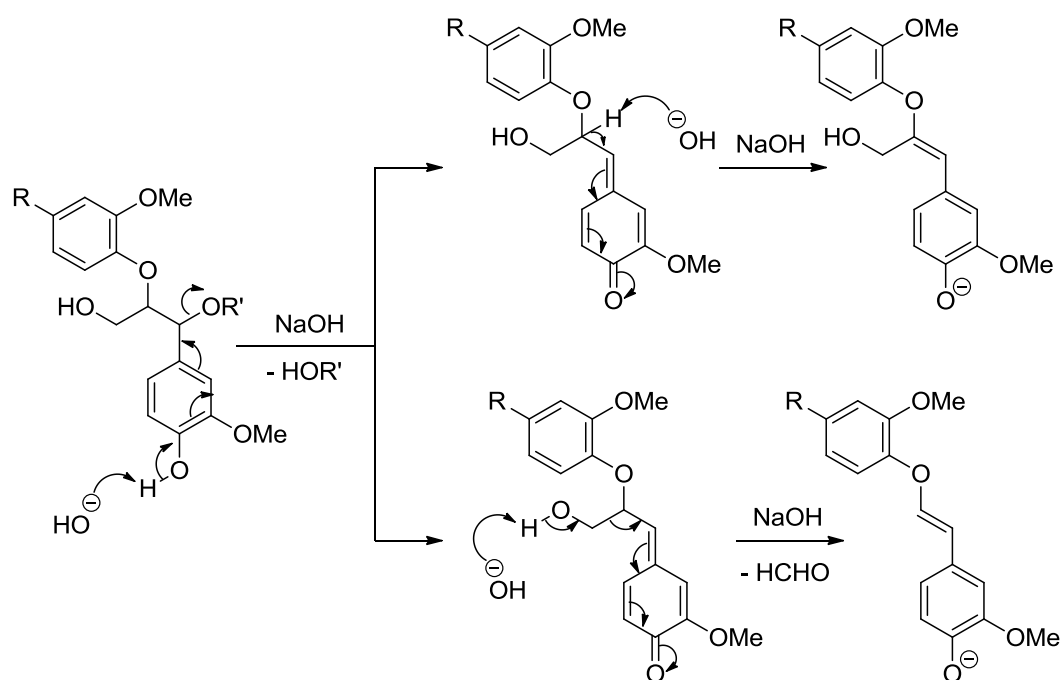
Ilmeisesti tärkein reaktio prosessissa on ligniinin α -aryylieetterien katkeaminen solvolyyysillä ligniiniyksikön rakenteesta ja olosuhteista riippuen joko kinonimetidiväliuotteen kautta tai S_N2 -mekanismilla. Luultavasti joissakin olosuhteissa myös β -aryylieetterisidokset katkeavat.³⁹ Uuttoprosessin jälkeen ligniini ja liuottimet on helppo erottaa toisistaan joko haihduttamalla liuottimet pois tai saostamalla ligniini ulos liuoksesta esimerkiksi laimentamalla sitä happamalla vedellä.^{35,38} Organosolv-ligniinissä ei ole rikkiä, mutta tässäkin prosessissa tapahtuu haitallisia, pilkkoutuneiden ligniinin osien välisiä ja mahdollisesti myös molekyylin sisäisiä kondensaatioreaktioita.³⁹ Organosolv-ligniini liukenee useisiin orgaanisiin liuottimiin, mutta vain emäksiseen veteen.³⁵ Organosolv-ligniinin M_n on yleensä 500–5000 g/mol ja polydispersiteetti vain 1,5–2,5.⁴

Organosolv-menetelmän etuja ovat mm. orgaanisten liuottimien helppo tislattavuus ja siten myös niiden kierrätettävyyden. Toisaalta prosessi vaatii monimutkaisia pesujärjestelyjä. Orgaaniset liuottimet ovat kalliita, ja niiden kierrätys kuluttaa energiaa. Niiden käyttö vaatii myös erityisiä turvallisuusjärjestelyjä. Näistä syistä organosolv-prosessi on nykyään liian kallis käytettäväksi biomassan esikäsittelyssä.³⁷

3.1.4 Soodaprosessi

Soodaprosessia käytetään ligniinin erottamiseen yksivuotisista kasveista.²⁹ Menetelmässä kasviainesta keitetään natriumhydroksidin vesiliuoksessa (pH = 11–13) 150–170 °C:n lämpötilassa.^{4,16} Soodaprosessissa ligniinin sidosten katkeaminen keskittyy pääasiassa fenolisten ligniiniyksiköiden α -aryylieetterisidoksiin. Sopivien nukleofiilien puuttuessa kinonimetidin α -hiileen ei tapahdu suoraa hyökkäystä, vaan hydroksidi-ionit vievät protonin joko primääriseltä alkoholilta tai β -hiileltä (kaavio 4).³¹ Prosessin jälkeen ligniini

saostetaan ja suodatetaan erilleen keittoliemestä ja kuivataan.¹⁵ Soodaligniinin M_n on alhainen (800–3000 g/mol), sen polydispersiteetti vaihtelee välillä 2,5–3,5, eikä siinä esiinny rikkiä.⁴



Kaavio 4. Soodaprosessin reaktiomekanismit.

3.2 Esimerkkejä muista erotusmenetelmistä

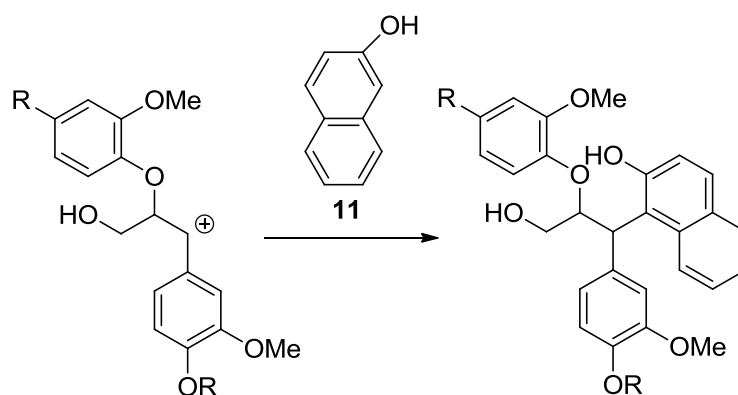
Teollisten prosessien lisäksi ligniinin erotukseen on olemassa myös muita, pienemmän mittakaavan menetelmiä, joista tässä työssä tarkastellaan höyryräjäytystä, kuulamylyerotusta ja uuttoa ionisilla nesteillä.

3.2.1 Höyryräjäytys

Höyryräjäytystä käytetään laajasti erilaisten lignoselluloosabiomassojen, kuten viljelyjätteen, esikäsittelyssä.⁴⁰ Menetelmässä hienonnettu kasviaines altistetaan joksikin aikaa paineistetulle höyrylle korkeassa lämpötilassa, minkä jälkeen painetta lasketaan äkisti. Höyryaltistuksessa hemiselluloosan asetyyliryhmät hydrolysoituvat heikentäen lignoselluloosan rakennetta, ja räjähdysmäinen

paineen lasku saa aikaan ligniinin irtoamisen muusta materiaalista.⁴¹ Pelkkää höyryä käytettäessä prosessi tapahtuu autohydrolyyttisesti, puumateriaalin ainesosista syntyneiden orgaanisten happojen katalysoimana.¹⁸

Prosessissa ligniini pilkkoutuu α -aryylieetterien kohdalta, jolloin syntyy karbokationeja, jotka voivat sekä depolymeroitua edelleen β -O-4-sidosten katkeamisella että uudelleenpolymeroitua keskenään C-C-sidoksia muodostaen. Erotetun ligniinin laatua voidaan parantaa lisäämällä prosessiin jotakin de- ja uudelleenpolymeroitumista estävää ainetta. Esimerkki sellaisesta on 2-naftoli (**11**), joka hyökkää karbokationiin ja estää sen reagoimisen eteenpäin (kaavio 5), jolloin ligniinin rakenne säilyy tasalaatuisempana. Samalla kuitenkin muodostuu uusi C-C-sidos. Höyryräjäytyksen jälkeen käsittelyssä hajonnut hemiselluloosa poistetaan vesipesulla, ja kiinteä materiaali kuivataan, minkä jälkeen ligniini voidaan uuttaa siitä dioksaani-vesi-seoksella (esim. 9:1).¹⁸



Kaavio 5. Karbokationien de- ja uudelleenpolymeroitumisen estäminen 2-naftolin (11**) avulla.**

3.2.2 Kuulamyly

Kuulamyly kuuluu fysikaalisiin erotusmenetelmiin, jotka perustuvat hiukkaskoon pienentämiseen mekaanisella kulutuksella.⁴⁰ Kuulamylyerotuksessa kuivattua puujauhoa hienonnetaan edelleen värähtelevässä tai pyörivässä kuulamylyssä

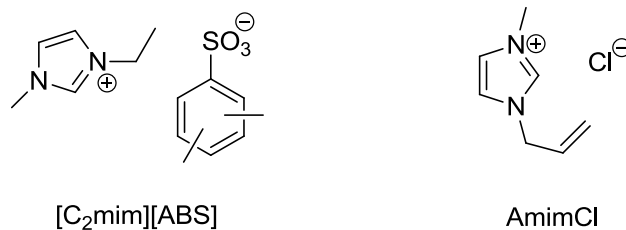
jopa viikkojen ajan, minkä jälkeen ligniini uutetaan dioksaani-vesi-seoksella.⁴² Prosessin aikana ligniinin rakenteessa uskotaan tapahtuvan vain pieniä muutoksia.³⁵ Toisaalta edes kuulamylyllä erotetun ligniinin rakenteen ei voida katsoa edustavan natiivin ligniinin rakennetta,³⁵ koska prosessissa puuaineksen ligniinistä saadaan erotettua enintään vain 50 %.⁴³

3.2.3 Ioniset nesteet

Ionisten nesteiden käyttö tarjoaa mahdollisen vaihtoehdon perinteisille organosolv-prosesseille.⁴⁴ Ioniset nesteet ovat suoloja, joiden sulamispiste on alle 100 °C.⁶ Alhaisen höyrynpaineensa ja hyvän termostabiiliutensa takia niitä pidetään vihreänä vaihtoehtona ympäristön kannalta haitallisille ja helposti haihtuville liuottimille.⁴⁵

Tan *et al.* käyttivät 1-etyyli-3-metyyli-imidatsoliummalkyylibentseenisulfonaattia ([C₂mim][ABS]) (kuva 6) ligniinin uuttamiseen höyryllä esikäsitellystä sokeriruokobagassista. Uutot tehtiin korkeassa lämpötilassa (170–190 °C) mutta normaalissa ilmanpaineessa, johon siirtyminen olisi huomattava edistysaskel nykyisiin teollisiin korkean paineen erotusprosesseihin verrattuna. Ionisesta nesteestä saostetun ligniinin saanto oli yli 93 %, ja siinä oli 1,5 m-% rikkiä, joka oli ilmeisesti peräisin ABS:sta. Ioninen neste saatiin kierrätettyä, mutta kierrätykseen tarvittiin monimutkainen prosessi.³⁴

Ionisilla nesteillä tapahtuvan ligniinin erotuksen mekanismeja ei tunneta kovin hyvin. Ji *et al.* käyttivät mekanismitutkimuksissaan 1-(4-metoksifenyyli)-2-metoksietanolia ligniinin β-O-4-sidosta jäljittelevänä malliaineena ja 1-allyyli-3-metyyli-imidatsoliumkloridia (AmimCl) (kuva 6) ionisena nesteinä, johon he liuottivat myös oikeaa ligniiniä 130 °C:ssa. Liuotuksen jälkeen regeneroidussa ligniinissä ei havaittu tapahtuneen muutoksia, mistä voitiin päätellä, että ligniinin ja liuottimen välillä ei tapahtunut kemiallista reaktiota, ja malliainekokeiden tulosten perusteella AmimCl vuorovaikutti ligniinin kanssa lähinnä vetysidosten välityksellä.⁴⁶



Kuva 6. Ioniset nesteet [C₂mim][ABS] ja AmimCl.

4 Ligniinin käyttökohteita

Paperi- ja selluteollisuus tuottaa vuosittain n. 50 miljoonaa tonnia ligniiniä, joista vain n. 2 % päätyy kaupalliseen käyttöön ja loput yhä polttoaineeksi paperitehtaiden energiantuotantoon. Kaupallisesta ligniinistä sulfaattiprosessilla tuotetaan vuosittain 100 kt ja sulfiittiprosessilla 1 Mt.⁵

4.1 Nykysovelluksia

Erotusprosessin kautta saatua ligniiniä voidaan hyödyntää joko sellaisenaan tai sitä voidaan muokata kemiallisesti lukuisilla eri tavoilla. Nykyajan kaupalliset sovellukset keskittyvät pääasiassa kemiallisesti muokkaamattoman ligniinin hyödyntämiseen. Muokkaamatonta ligniiniä voidaan käyttää mm. muovien ainesosana parantamaan niiden ominaisuuksia.⁴ Esimerkiksi normaalisti biohajoamattomista polyeteenistä ja polypropeenista voidaan tehdä biohajoavia sekoittamalla niihin ligniiniä.²²

Lignosulfonaatit ovat kaupallisesti tärkein ligniiniryhmä.⁴⁷ Ne ovat erinomaisia dispergointi- ja sideaineita, joita käytetään nykyään useissa sovelluksissa. Betonin valmistuksessa lignosulfonaattien dispergointiominaisuudet vähentävät veden tarvetta, jolloin valmiista betonista saadaan tiheämpää, tasaisempaa ja

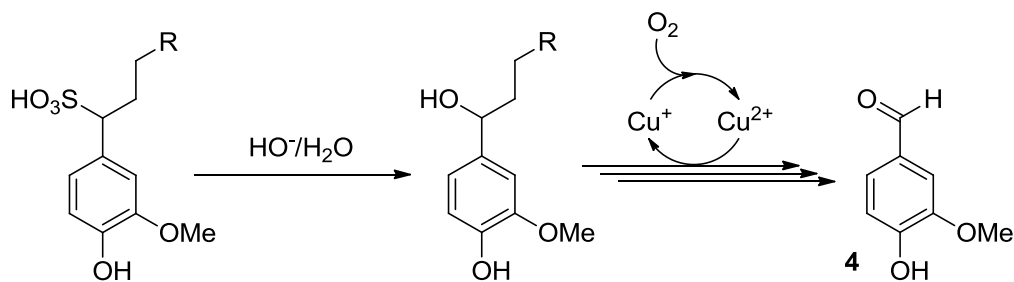
kestävämpää. Lignosulfonaattien sideaineominaisuuksia käytetään hyväksi esimerkiksi teiden pölyämisen estämisessä.²⁸

4.2 Kemiallisen muokkauksen tarjoamat mahdollisuudet

Kemiallisella muokkauksella ligniinistä voitaisiin valmistaa polttoaineita, yleis- ja hienokemikaaleja sekä polymeerejä.⁴ Nykypäivänä suurin este erilaisten arvokkaiden ligniinituotteiden kaupallistamiselle ovat ligniinin ominaisuuksien, kuten moolimassan, funktionaalisuuden ja termisten ominaisuuksien suuri vaihtelu.²⁷ Lisäksi sulfaatti- ja sulfiittiligniineissä esiintyvä rikki on tunnettu katalyyttimyrkky, mikä hankaloittaa näiden ligniinien jatkokäsittelyä.²

Ligniiniä voidaan muokata kemiallisesti joko luomalla siihen uusia kemiallisesti aktiivisia kohtia, funktionalisoimalla sen hydroksyyli-ryhmiä tai depolymeroimalla sitä pienempiin osiin.⁴ Ligniinipolymeerit voisivat esimerkiksi korvata nykyään hiilikuitujen valmistuksessa käytetyn polyakryylnitriilin halvempaa vaihtoehtona.⁴⁴ Hiilikuidut ovat kevyitä ja kestäviä materiaaleja, ja niiden eräs lupaava käyttöalue on energiatehokkaiden kevytjoneuvojen kehittäminen.^{4,44}

Depolymerointi tarjoaa periaatteessa monipuolisimman keinon ligniinin hyödyntämiseen. Toistaiseksi kuitenkin makuaineena käytetty vanilliini (**4**) ja DMSO ovat ainoat pienimoolimassaiset kemikaalit joita valmistetaan ligniinistä suuria määriä.⁴⁸ Norjalainen Borregaard on tällä hetkellä ainoa ligniinin vanilliinin valmistaja maailmassa.⁴⁹ Sen prosessilla 1000 kg:sta puuta valmistetaan 400 kg erikoisselluloosaa, 400 kg ligniiniä, 50 kg etanolia, 50 kg CO₂:a ja 3 kg vanilliinia, joten pelkän vanilliinin saanto jää hyvin vaatimattomaksi. Borregaardin vanilliinisynteesissä (kaavio 6) käytetään kuparikatalyyttiä, joka kierrätetään tiukoista päästörajoituksista johtuen.⁵⁰ Ligniinin hajotukseen ja depolymerointiin kehitettyjä menetelmiä tarkastellaan lähemmin luvussa 6.

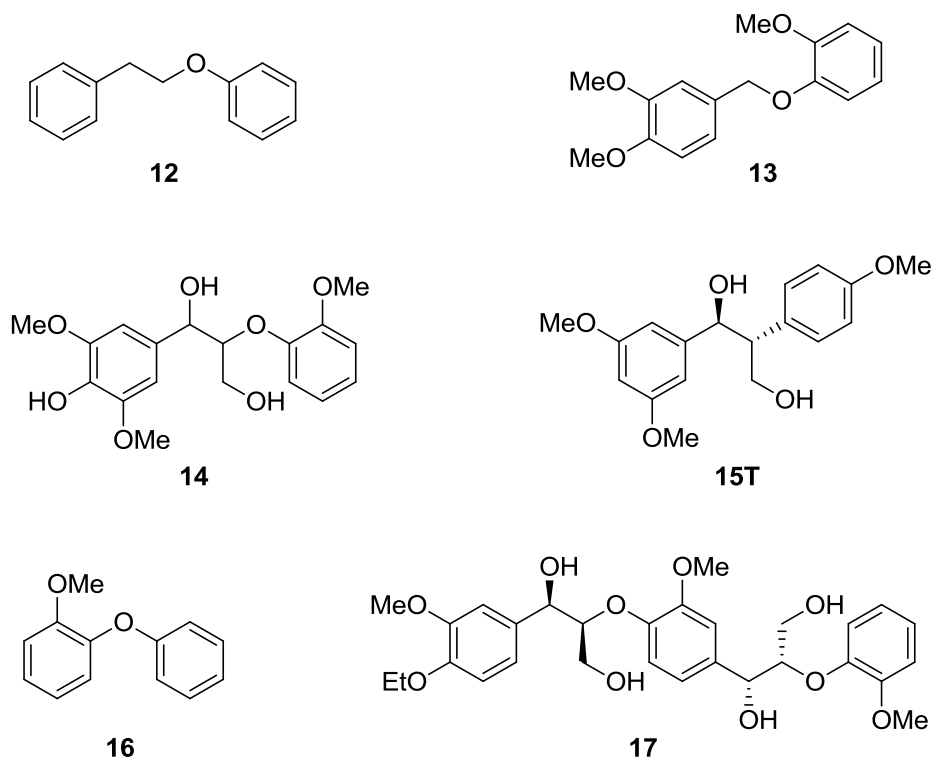


Kaavio 6. Borregaardin vanilliinisynteesi.

5 Malliaineet

Tehokkaiden depolymerointimenetelmien kehittämiseksi ligniinille ja haluttujen tuotteiden korkean selektiivisyyden saavuttamiseksi tarvitaan perusteellinen ymmärrys depolymeroinnin reaktiomekanismeista.⁵¹ Erotetun ligniinin sisältämät epäpuhtaudet, monimutkainen ja epäsäännöllinen rakenne, heikko liukoisuus moniin orgaanisiin liuottimiin ja sen fenolisten ja alifaattisten hydroksyyliyhymien aiheuttamat sivureaktiot kuitenkin tekevät sen depolymeroinnin tutkimisesta erittäin vaikeaa.⁵²

Tämän vuoksi tutkimuksissa käytetään usein oikean ligniinin sijaan sitä yksinkertaisempia malliaineita, jotka sisältävät ligniinissä esiintyviä sidoksia.^{7,53} Kuvassa 7 on esitetty joitakin esimerkkejä erilaisista ligniinin malliaineista.^{51,54–57} Useimmat malliaineet sisältävät vain yhtä ligniinin monolignolien välistä sidostyyppiä, ja kunkin sidostyyppin reaktiivisuuden tutkiminen erikseen auttaa ymmärtämään ligniinipolymeerin hajoamista ja reaktiivisuutta myös kokonaisuutena.⁶ Lisäksi malliaineet on helppo karakterisoida, ja niiden reaktioiden tuotteet on helppo puhdistaa ja analysoida.⁵² Koska β -O-4-sidos on yleisin monolignolien välisistä sidoksista, suurin osa tutkimuksesta on keskittynyt sen katkaisuun, ja sille on kehitetty useita erilaisia malliaineita.^{6,53}



Kuva 7. Esimerkkejä ligniinin yleisimpiä sidoksia sisältävistä malliaineista.

6 Ligniinin hajotus ja depolymerointi

Ligniinin ja sen malliaineiden hajotusta ja depolymerointia on tutkittu useilla menetelmillä, jotka voidaan jakaa termokemiallisiin, pelkistäviin, hapettaviin ja hapetuspelkistysneutraaleihin menetelmiin. Seuraavaksi tarkastellaan joitakin esimerkkejä näistä menetelmistä.

6.1 Termokemialliset menetelmät

Termokemiallisissa hajotusmenetelmissä hyödynnetään korkean lämpötilan vaikutusta. Esimerkkejä ligniinin hajottamiseen käytetyistä termokemiallisista menetelmistä ovat pyrolyysi, kaasutus ja emäskatalysoitu hydrolyysi.

6.1.1 Pyrolyysi

Pyrolyysi ja kaasutus ovat esimerkkejä termisistä hajotusmenetelmistä.⁵³ Pyrolyysi tarkoittaa aineen lämpöhajoamista kaasumaisiksi, nestemäisiksi tai kiinteiksi tuotteiksi hapettomissa olosuhteissa.⁵⁸ Ligniinin pyrolyysiä on tutkittu lähes 100 vuotta.⁴ Se on hyvin monimutkainen prosessi, johon vaikuttavat useat tekijät, kuten hajotettavan ligniinin rakenne ja koostumus, kuumennusnopeus, reaktiolämpötila ja kantajakaasun virtausnopeus.⁵⁹

Ligniinin pyrolyysin lämpötilaväli on hyvin laaja (esim. 160–900 °C).⁶⁰ Hajoaminen alkaa heikompien sidosten katkeamisella, ja vahvemmat sidokset katkeavat korkeammissa lämpötiloissa. Esimerkiksi α - ja β -aryylieetterisidokset on verrattain helppo katkaista, kun taas aromaattiset renkaat hajoavat vasta yli 500 °C:ssa vetyä vapauttaen.^{7,59} Lämpötilasta ja reaktion kestosta riippuen prosessin lopputuote voi olla joko nestettä tai kaasua.⁷

Ligniinin pyrolyysissä syntyneet bioöljyt ovat monimutkaisia seoksia, jotka sisältävät sekä aromaattisia että ei-aromaattisia yhdisteitä, joista kunkin osuus on tyypillisesti alle 1 % seoksen kokonaispainosta ja joiden molekyylipainojakauma on laaja vaihdellen kevyistä hiilivedyistä raskaisiin oligomeereihin.⁶¹ Tärkeimpiin ligniinin pyrolyysituotteisiin kuuluvat kaasumaiset hiilivedyt yhdessä CO:n ja CO₂:n kanssa, haihtuvat nesteet (metanoli, asetoni ja asetaldehydi), monolignolit sekä laaja kirjo erilaisia fenoleita kuten syringoli (**1**), guajakoli (**2**), ja katekoli (**3**). Lisäksi prosessissa syntyy kiinteää hiiltä.⁷ Pyrolyysin heikkouksia ligniinin depolymerointimenetelmänä ovat korkea energiankulutus, tehottomuus ja aromaattisten rakenteiden tuhoutuminen.²

6.1.2 Kaasutus

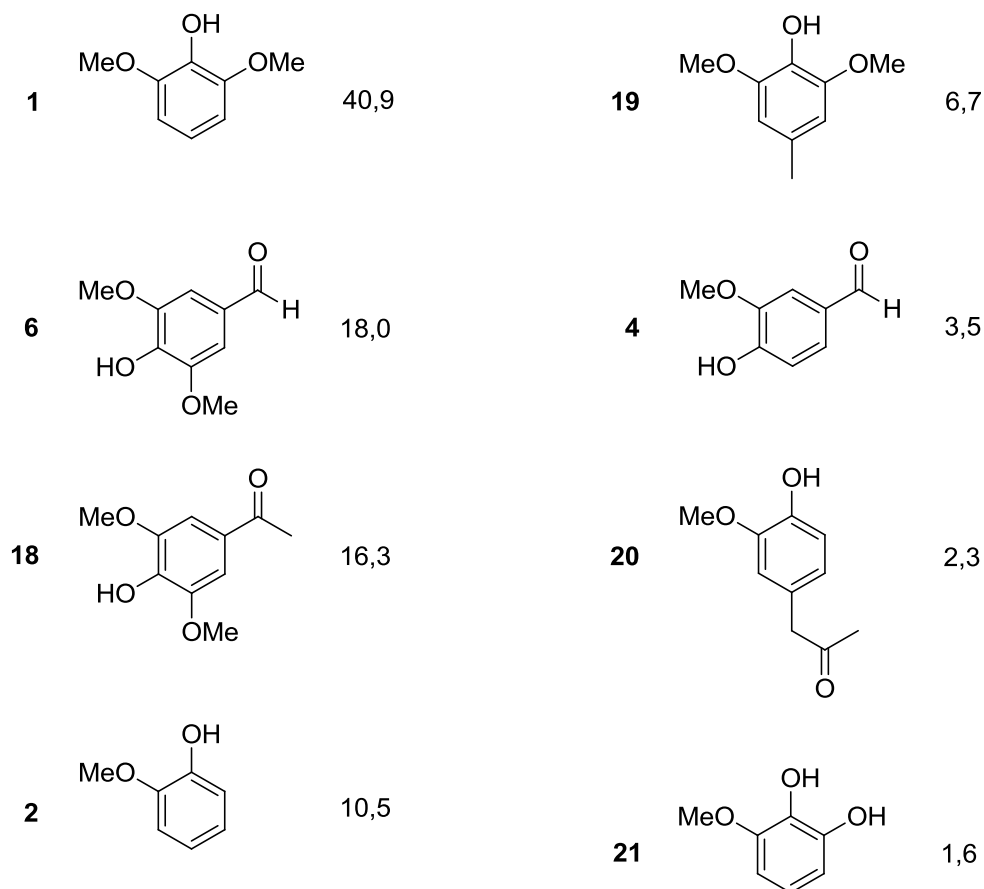
Ei-pyrolyytisessä kaasutuksessa hajotettava aine reagoi hapen tai veden kanssa kaasuiksi korkeassa lämpötilassa.⁵⁸ Ligniinin kaasutuksessa syntyy vetyä, CO:a, CO₂:a ja CH₄:a, ja niiden jakaumaan vaikuttavat prosessin lämpötila ja paine, hapen ja höyryn määrä, kuumennusnopeus ja hajotettavan ligniinin koostumus

sekä mahdollinen katalyytti. Prosessista saatavaa kaasuseosta kutsutaan synteetikaasuksi, ja sitä käytetään sähkön, vedyn, nestemäisten polttoaineiden ja kemikaalien tuotannossa. Lisäksi teknisen ligniinin kaasutuksessa syntyy sen epäpuhtauksista johtuen myös tuhkaa ja H_2S :a.⁶¹

Perinteisessä kaasutuksessa käytetään ligniinin palamiseen vaadittavaa pienempää määrää happea tai vesihöyryä lähellä normaalia ilmanpainetta ja hyvin korkeassa lämpötilassa (esim. 800 °C), kun taas katalyyttinen kaasutus ylikriittisessä vedessä suoritetaan matalammassa lämpötilassa (esim. 350–500 °C) ja korkeammassa paineessa (esim. 250 bar).⁶¹ Katalyyttisessä kaasutuksessa voidaan käyttää katalyytteinä esimerkiksi nikkeli- ja ruteniumkatalyyttejä.^{62,63} Vaikka synteetikaasun koostumuksen säätäminen on helpompaa kuin pyrolyysiöljyn koostumuksen, synteetikaasu on vähäarvoisempaa kuin ligniinin pyrolyysiöljyn sisältämät aromaattiset tuotteet.⁶¹

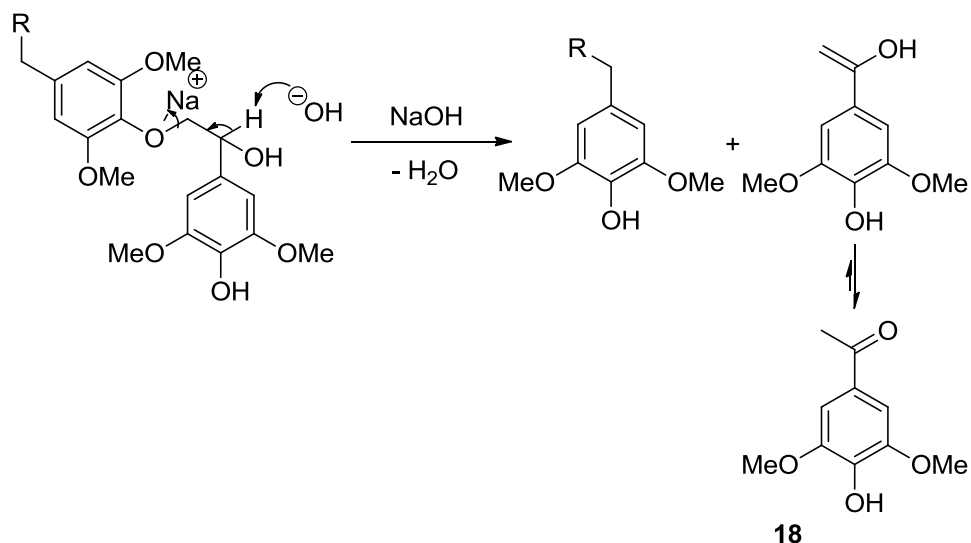
6.1.3 Emäskatalysoitu hydrolyysi

Roberts *et al.* tutkivat organosolv-ligniinin depolymerointia sekä NaOH:n että boorihapon vesiliuoksissa korkeassa lämpötilassa (240–340 °C) ja paineessa (250–315 bar). Reaktioissa syntyi viskoosia öljyä, joka koostui monomeereistä ja niiden välisissä polymeroitumisreaktioissa syntyneistä oligomeereistä. Esimerkki eräässä NaOH-katalysoidussa reaktiossa syntyneistä monomeereistä ja niiden osuuksista monomeerien kokonaismassasta on esitetty kuvassa 8. Korkein saanto öljylle, 23 m-% ligniinin alkuperäisestä määrästä, saavutettiin n. 4 minuutin käsittelyllä, jossa NaOH:n määrä oli 40 m-% ligniinin määrästä.⁶⁴



Kuva 8. Ligniinin NaOH-katalysoidun depolymeroinnin monomeerituotteita ja niiden prosenttiosuudet monomeerien kokonaismassasta.

Seuraavaksi Roberts *et al.* pyrkivät parantamaan öljyn saantoa käyttämällä boorihappoa estämään substituotujen fenolien reagoimisen eteenpäin muodostamalla boraattiestereitä niiden kanssa. Koska organosolv-ligniini ei liukene happamiin vesiliuoksiin, jouduttiin käyttämään melko pitkiä reaktioaikoja. Paras saanto tuoteöljylle, 85 m-% ligniinin alkuperäisestä määrästä, saavutettiin 40 minuutin mittaisessa käsittelyssä, jossa boorihapon määrä oli 200 m-% ligniinin määrästä. Tällöin tuotteena saatu öljy sisälsi monomeerejä, dimeerejä ja trimeerejä. Monomeerien osuutta tuoteseoksessa saatiin kasvatettua lisäämällä reaktioon myös NaOH:a. Roberts *et al.* ehdottivat myös mekanismia NaOH-katalysoidulle β -O-4-sidoksen katkeamiselle (kaavio 7).⁶⁴



Kaavio 7. NaOH-katalysoidun depolymeroinnin mahdollinen mekanismi.

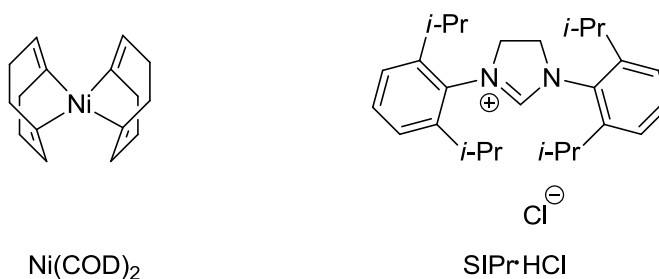
6.2 Pelkistykseen perustuvat menetelmät

Ligniinin pelkistävää depolymerointia on tutkittu lukuisilla eri katalyyteillä, ja suurin osa kehitetyistä katalyyttisysteemeistä perustuu monolignoliyksiköiden välisten C-O-sidosten hydrogenolyysiin.² Tällöin katalyytin on oltava tarpeeksi selektiivinen, jotteivät aryylirengaat samalla pelkisty sykloheksyyleiksi. Seuraavaksi tarkastellaan esimerkkejä nikkelikatalysoidusta hydrogenolyysistä ja boorikatalysoidusta pelkistyksestä.

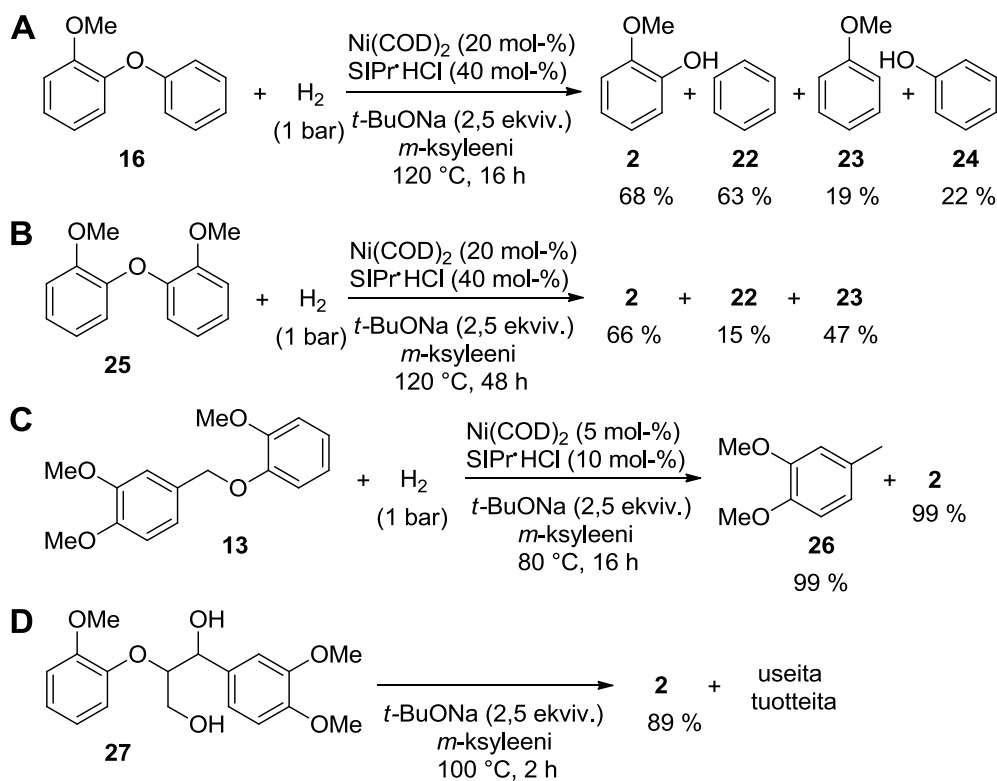
6.2.1 Nikkelikatalysoitu hydrogenolyysi

Sergeev ja Hartwig käyttivät $\text{Ni}(\text{COD})_2$ -katalyyttiä ja SIPr-karbeenä ligandina ligniinin 4-O-5- ja α -O-4-malliaineiden hydrogenolyysikokeissa. Sekä katalyytti että ligandin esiaste SIPr-HCl on esitetty kuvassa 9. Kokeet suoritettiin vedyn alla, ja niissä käytettiin *t*-BuONa:a emäksenä deprotonoimaan ligandin esiaste toimivaksi ligandiksi. Kaikissa reaktioissa guajakoli (**2**) kuului tärkeimpiin tuotteisiin. 4-O-5-malliaineen **16** reaktioissa C-O-sidos pyrki katkeamaan elektroniköyhän aryylirengaan puolelta (kaavio 8, reaktio A), ja sellaisen

puuttuessa symmetrisen ja elektronirikkaan **25**:n reaktio tapahtui hitaasti (kaavio 8, reaktio B). α -O-4-malliaineen **13** edellisiä heikomman C_{α} -O-sidoksen katkaisemiseen riittivät miedommat olosuhteet (kaavio 8, reaktio C), ja β -O-4-malliaineen **27** hajottaminen onnistui pelkällä emäksellä ilman nikkelikatalyyttiä (kaavio 8, reaktio D).⁵⁵

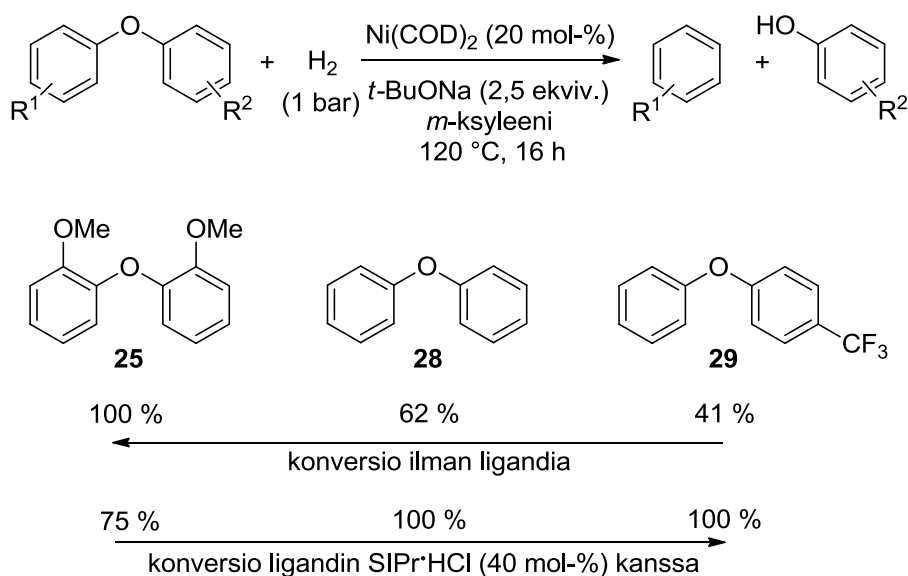


Kuva 9. Ni(COD)_2 -katalyytti ja karbeeniligandin esiaste SIPr-HCl.

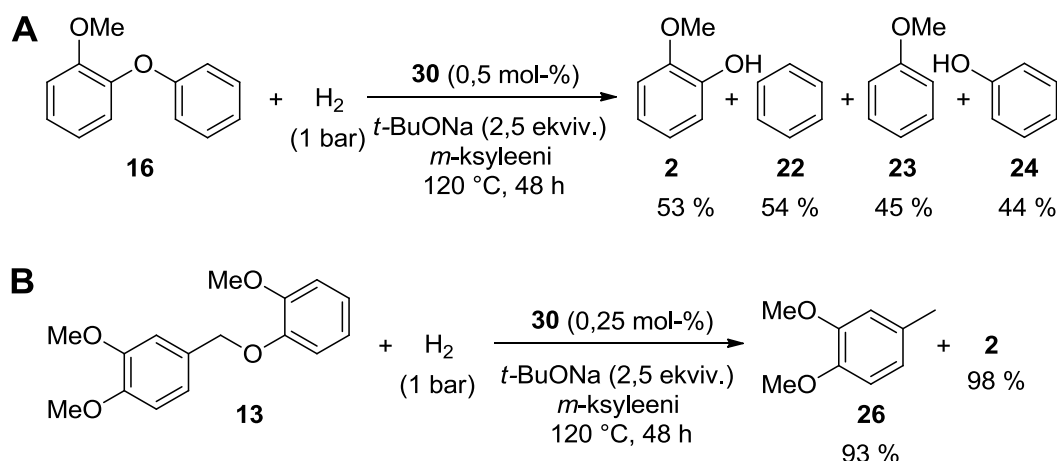


Kaavio 8. Sergeevin ja Hartwigin eri malliaineilla suorittamia reaktioita.

Ligandin jättäminen pois edellä mainitusta katalyyttisysteemistä heikensi nikkelikatalyytin reaktiivisuutta yksinkertaisten diaryylieetterien pelkistyksessä,⁵⁵ mutta yllättäen vahvisti sen tehoa rakenteeltaan lähempänä oikeaa ligniiniä olevien *o*-metoksisubstituoitujen, elektronirikkaiden diaryylieetterien pelkistyksessä.⁶⁵ Erilaisten substituenttien ja karbeeniligandin vaikutusta reaktiivisuuteen on havainnollistettu diaryylieettereillä **25**, **28** ja **29** (kaavio 9). Emäksenä käytetyllä *t*-BuONa:lla oli ilman ligandiakin tärkeä rooli pelkistyksessä, koska ilman sitä katalyytti ei ollut regioselektiivinen ja reaktiossa muodostui myös aryylirenkaiden pelkistystuotteita. Sergeev *et al.* kokeilivat myös muita nikkelikatalyyttejä ja havaitsivat Ni(CH₂TMS)₂(TMEDA):n (**30**) olevan huomattavasti aktiivisempi katalyytti kuin Ni(COD)₂. Esimerkiksi **16**:n tehokkaaseen pelkistämiseen areeneiksi ja fenoleiksi katalyyttiä **30** tarvittiin vain 0,5 mol-% (kaavio 10, reaktio A), ja **13**:n hajotukseen riitti 0,25 mol-%:n katalyyttimäärä (kaavio 10, reaktio B).⁶⁵



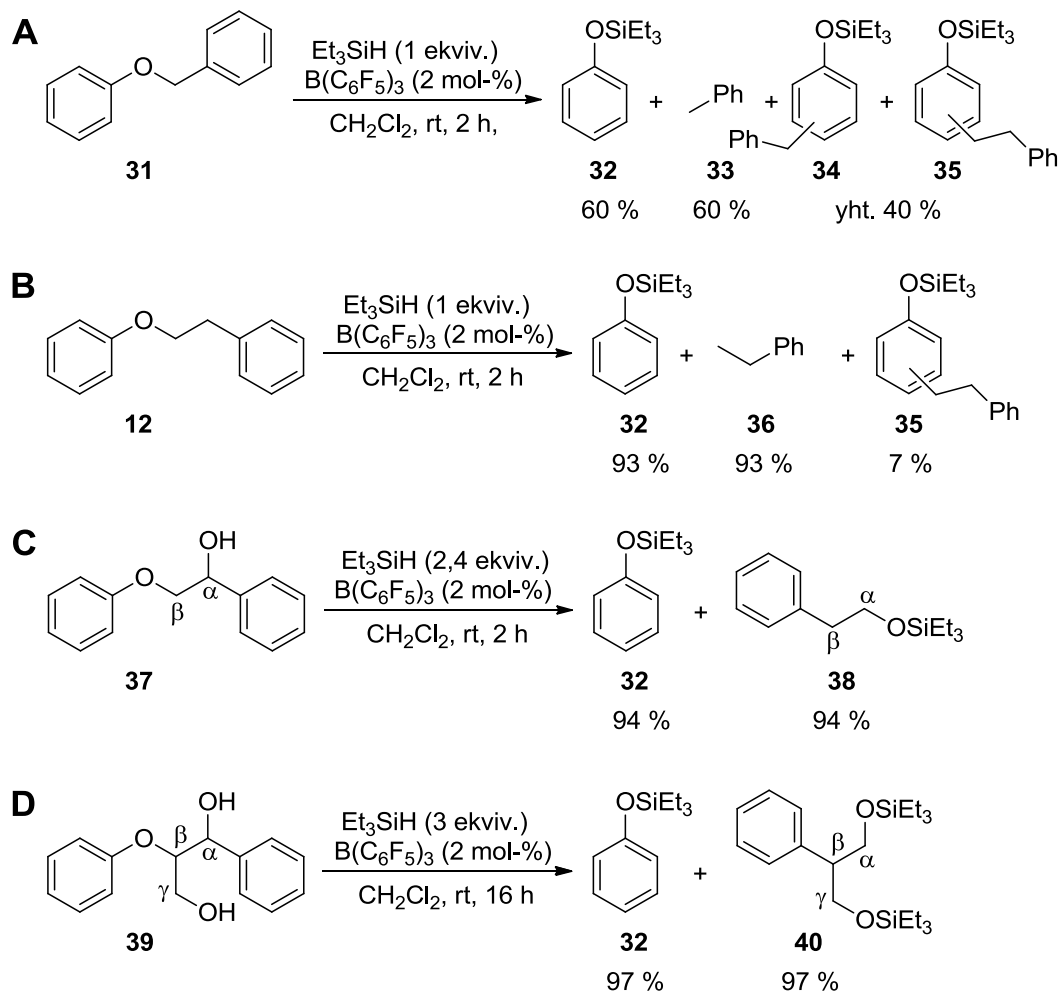
Kaavio 9. Diaryylieetterin substituenttien ja Ni(COD)₂-katalyytin karbeeniligandin vaikutus reaktiivisuuteen Sergeevin *et al.* kokeissa.



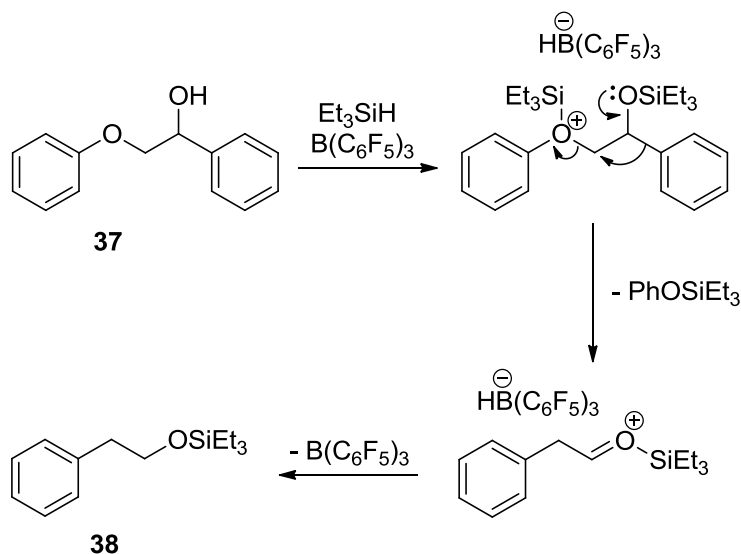
Kaavio 10. $\text{Ni}(\text{CH}_2\text{TMS})_2(\text{TMEDA})_n$ (30**) katalysoima malliaineiden **16** ja **13** pelkistävä hajotus.**

6.2.2 Boorikatalysoitu pelkistys

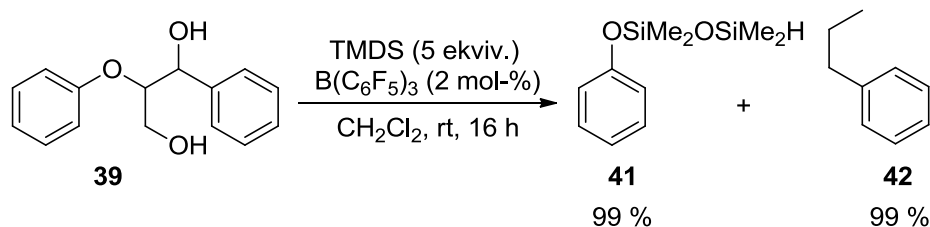
Feghali ja Cantat käyttivät $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$:a katalyyttinä ja silaaneja pelkistiminä $\alpha\text{-O-4-}$ ja $\beta\text{-O-4-}$ malliaineiden hajotuksessa silyloiduiksi fenoleiksi ja alkoholeiksi. Sekä bentsyyllifenyylieetterin (**31**) että 2-fenyylieetyylifenyylieetterin (**12**) Et_3SiH -pelkistyksissä syntyi fenoksisilaania (**32**), alkyylibentseenejä ja sivureaktioiden tuotteina myös bentsyloituja fenoksisilaaneja (kaavio 11, reaktiot A ja B). Sen sijaan $\alpha\text{-hydroksyloidut}$ $\beta\text{-O-4-}$ malliaineet **37** ja **39** reagoivat semipinakolitoisiintumisen kautta (kaavio 11, reaktiot C ja D). Ehdotus tämän reaktion mekanismiksi on esitetty kaaviossa 12. Yhdiste **37** saatiin kuitenkin reagoimaan myös hydroksyloimattomien malliaineiden tapaan **32**:ksi, **35**:ksi ja **36**:ksi katalyytin ja pelkistimen määriä lisäämällä ja reaktioaikaa pidentämällä. Kun **39**:n hajotuksessa pelkistin Et_3SiH vaihdettiin TMDS:iin, muodostui tuotteen **40** sijaan 1-fenyylipropaania (**42**) (kaavio 13).⁵⁴



Kaavio 11. Feghalin ja Cantatin suorittamia B(C₆F₅)₃-katalysoituja pelkistyksiä.



Kaavio 12. Oletettu mekanismi β -O-4-malliaineen **37** pelkistyksessä tapahtuvalle semipinakolitoisiintumiselle.



Kaavio 13. β -O-4-malliaineen **39** pelkistys TMSD:lla.

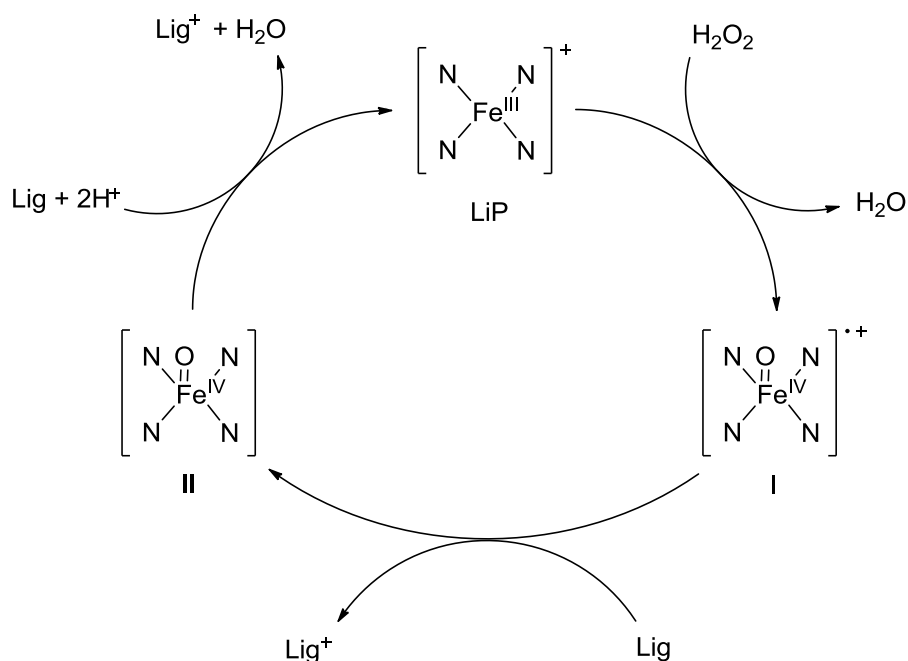
6.3 Hapetukseen perustuvat menetelmät

Ligniinin ja sen malliaineiden hapettavaan depolymerointiin on kehitetty useita erilaisia menetelmiä, jotka voidaan jakaa entsyymikatalysoituihin, siirtymämetallikatalysoituihin ja organokatalysoituihin hapetuksiin.

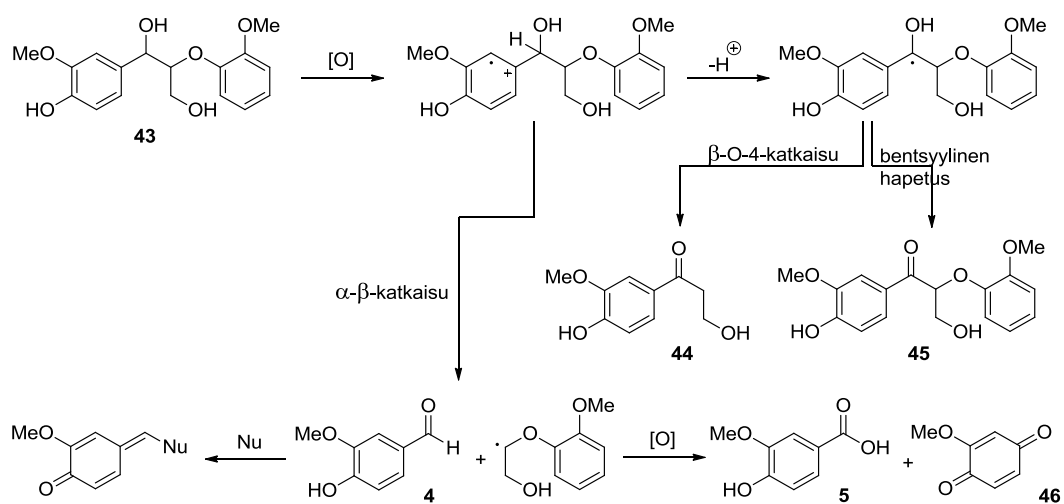
6.3.1 Entsyymikatalysoitu hapetus

Entsyymikatalysoiduissa hapetuksissa käytetään luonnon omia menetelmiä ligniinin hajotukseen. Vaikka monet luonnossa elävät mikro-organismit kykenevät hajottamaan ja hyödyntämään selluloosaa ja hemiselluloosaa energian ja hiilen lähteenä, vain harvat eliöt pystyvät hajottamaan ligniiniä.^{66,67} Valkolahosienet kuuluvat ligniinin tehokkaimpiin hajottajiin, ja myös jotkin bakteerit pystyvät hajottamaan sitä.^{12,68}

Ligniinin biokemiallinen hajotus on lukuisten eri entsyymien katalysoima hapetusprosessi.²⁶ Lignolyttisiä entsyymejä ovat ligniini-, mangaani- ja versatiiliperoksidaasit (eli LiP, MnP ja VP) ja lakkaasit.⁶⁹ Lignolyttisillä peroksidaaseilla on hemiryhmä, joka koostuu porfyriinirenkaasta ja sen keskellä olevasta rautaionista, ja se antaa näille entsyymeille korkean hapetuspelkistyspotentiaalin.²⁶ Sen ansiosta LiP pystyy hajottamaan haastavia ei-fenolisia ligniiniyksiköitä, kun taas MnP hapettaa Mn^{2+} :a Mn^{3+} ksi, joka puolestaan hapettaa sekä fenolisia että ei-fenolisia ligniiniyksiköitä. VP voi toimia sekä LiP:n että MnP:n tavoin.⁷⁰ Kummassakin tapauksessa aktivoitu peroksidaasientsyymi hapettaa kaksi substraattiyksikköä peräkkäin vastaanottaen kummaltakin yhden elektronin ja pelkistyen peroksidaasin passiiviseksi muodoksi, joka taas aktivoituu H_2O_2 :n hapettaessa sen.²⁶ LiP:n reaktion oletettu katalyyttinen sykli on esitetty kaaviossa 14.⁷¹ On tosin mahdollista että myös LiP:n katalysoima hapetus tapahtuu epäsuorasti, veratryyialkoholin välityksellä.¹² H_2O_2 syntyy sienen erittämien oksidaasien pelkistäessä ilmakehän happea katalyyttisissä reaktioissa, ja radikaalikationeiksi hapettuneet ligniiniyksiköt hajoavat pienempiin osiin.^{12,26} Kaaviossa 15 on esitetty mahdollisia reittejä radikaalikationin hajoamiselle.²



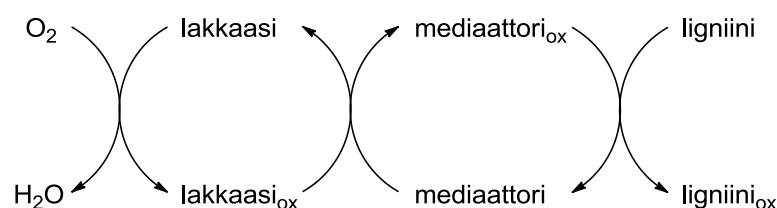
Kaavio 14. Ligniininperoksidaasin katalyyttinen sykli.



Kaavio 15. Ligniinin entsymaattisen hajoamisen mekanismeja.

Lakkaaseilla on peroksidaaseihin verrattuna matala hapetuspelkistyspotentiaali, joka normaalisti mahdollistaa vain fenolisten ligniiniyksiköiden (usein alle 10 % kaikista) hapetuksen.²⁶ Jos lakkaasin ja ligniinin välillä käytetään mediaattoria,

jonka hapetuspelkistyspotentiaali on tarpeeksi korkea, myös ei-fenolisten ligniiniyksiköiden hapettaminen muuttuu mahdolliseksi. Laakkasi-mediaattorihapetuksen katalyyttinen sykli on esitetty kaaviossa 16.⁶⁹ Lakkaasien aktiiviseen kohtaan kuuluu neljä Cu^{2+} -ionia, joiden avulla entsyymi vastaanottaa elektroneja substraateilta ja siirtää ne eteenpäin O_2 :lle, joka pelkistyy muodostaen vettä.^{26,69}



Kaavio 16. Ligniinin lakkaasi-mediaattorihapetuksen oletettu mekanismi.

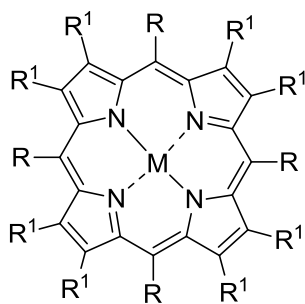
Ilmakehän happea käyttävinä lakkaasit ovat teollisuuden näkökulmasta houkuttelevampia kuin peroksidaasit, jotka tarvitsevat jatkuvaa H_2O_2 :n syöttöä.²⁶ Sekä sienet että bakteerit tuottavat kuitenkin vain verrattain pieniä määriä lakkaaseja, ja tarvitaan lisää kehitystyötä ja optimointia ennen kuin ligniinin biokemiallinen hajottaminen on taloudellisesti kannattavaa.⁶⁹

6.3.2 Siirtymämetallikatalysoitu hapetus

Ligniinin ja sen malliaineiden hapettavaan depolymerointiin on käytetty useita siirtymämetallikatalyyttejä.² Näihin kuuluvat mm. metalloporfyriinit, koboltti-Schiff-emäskompleksit, metyylitrioksoreenium, polyoksometalaatit, vanadiinikompleksit ja kupari-TEMPO-katalyyttisysteemit.^{2,35,72} Tässä luvussa tarkastellaan esimerkkeinä metalloporfyriineja ja vanadiinikomplekseja. Kupari-TEMPO-hapetuksia käsitellään tarkemmin luvussa 7.

Metalloporfyriinit kuuluvat biomimeettisiin katalyytteihin.³⁵ Metalloporfyriinin yleinen rakenne on esitetty kuvassa 10, ja se jäljittelee lignolyttisten

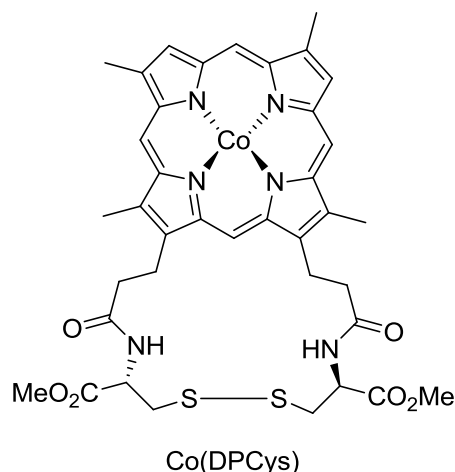
peroksidaasien hemiryhmän rakennetta. Lignolyyttisten peroksidaasien tavoin myös metalloporfyriini vastaanottaa elektronin substraatin aryyliiryhmältä, mikä käynnistää substraatin hajoamisen. Metalloporfyriinien ominaisuuksia voidaan säätää käyttämällä porfyriinirenkaassa erilaisia substituentteja. *meso*-asemissa (kuvassa 10 R-ryhmät) on tyypillisesti fenyyliryhmät porfyriinin hajoamisen ja dimeroitumisen estämiseksi, ja halogeeneilla tai ionisilla ryhmillä saadaan tarvittaessa parannettua kompleksin vesiliukoisuutta.⁷² Elektroneja puoleensa vetävät substituentit nostavat porfyriinin hapetuspelkistyspotentiaalia ja siten lisäävät sen katalyyttistä aktiivisuutta.⁷³ Katalyytti voidaan aktivoida H₂O₂:n lisäksi jollakin toisella hapen luovuttajalla, esimerkiksi *t*-BuOOH:lla, NaOCl:lla, KHSO₅:lla tai MMPP:lla.⁷² Metalloporfyriinejä voidaan käyttää myös immobilisoidussa muodossa, jolloin niiden kiinnitysalusta voi toimia oikeiden entsyymien rakennetta jäljittelevänä suojana aktiiviselle katalyytille.³⁵



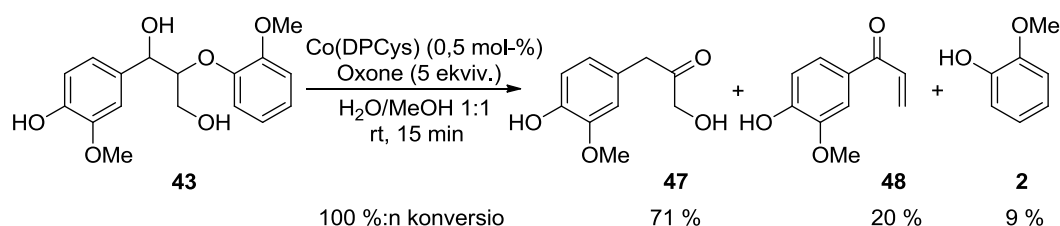
M = Co, Fe, Mn

Kuva 10. Metalloporfyriinikatalyytin yleinen rakenne.

Esimerkki ligniinin malliaineen metalloporfyriinikatalysoidusta hapetuksesta on Zhun *et al.* fenolisella β -O-4-malliaineella **43** suorittama koe, jossa käytettiin Co(DPCys)-katalyyttiä (kuva 11) ja Oxonea (2 KHSO₅·KHSO₄·K₂SO₄) hapen luovuttajana (kaavio 17). Reaktion päätuotteen **47** tosin uskottiin syntyneen happokatalysoidulla β -aryylieetterin katkaisulla, mutta tuotteiden **48** ja **2** pääteltiin syntyneen elektroninsiirtoreaktioilla.⁷³



Kuva 11. Co(DPCys)-katalyytti.

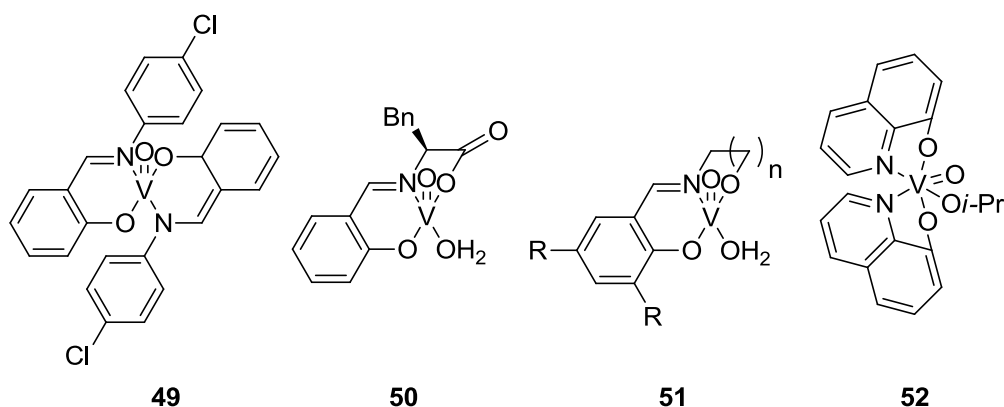


Kaavio 17. Malliaineen 43 Co(DPCys)-katalysoitu hapetus.

Katalyyttisysteemillä kokeiltiin myös entsymolyysiligniinin hajotusta, mutta siihen tarvittiin 120 °C:n lämpötila. Optimoiduissa olosuhteissa reaktiotuotteena saatiin öljyä, jonka osuus oli 31,2 m-% ligniinin alkuperäisestä määrästä ja joka koostui aromaattisista monomeereistä (mm. vanilliinista (**4**) ja syringaldehydistä (**6**)). Lisäkokeet erilaisilla organosolv-ligniineillä osoittivat, että hajotettavan ligniinin lähteellä on merkittävä vaikutus konversioon ja tuotejakaumaan.⁷³

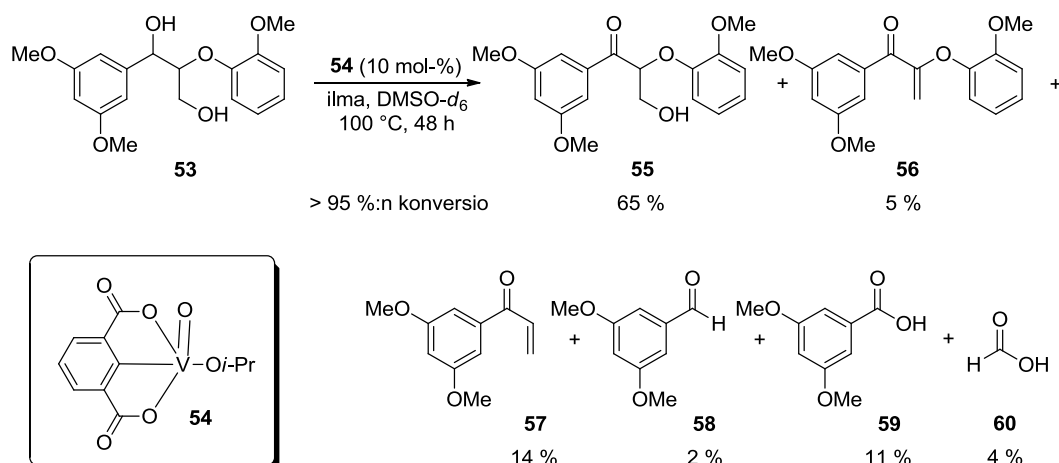
Ligniiniä voidaan depolymeroida myös alkoholien hapetukseen kehitetyillä menetelmillä. Tällöin voidaan käyttää ilmaa hapettimena yhdessä jonkin perusmetallikatalyytin kanssa, mikä on yksinkertainen ja edullinen ratkaisu. Esimerkiksi vanadiinikompleksit ovat osoittautuneet lupaaviksi katalyyteiksi

alkoholien hapetuksissa.⁷⁴ Esimerkkejä erilaisista ligniinin sidosten hapetukseen käytetyistä vanadiinikatalyyteistä on esitetty kuvassa 12.⁷²



Kuva 12. Ligniinin sidosten hapetukseen käytettyjä vanadiinikatalyyttejä.

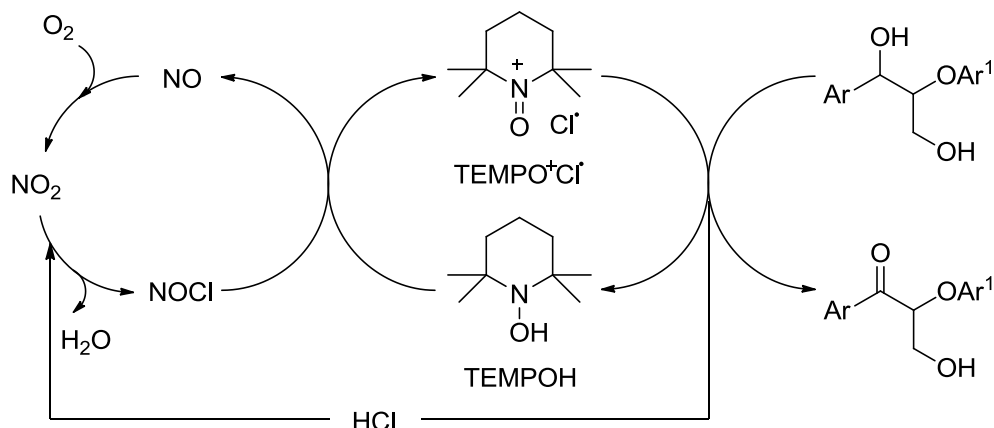
Sedai *et al.* käyttivät vanadiinikatalyyttejä β -O-4-malliaineen **53** ilmahapetuksessa. (Dipikolinaatti)V^V(O)(Oi-Pr)_n (**54**) katalysoimassa reaktiossa saavutettiin yli 95 %:n konversio (kaavio 18). Reaktion tuotteet erosivat yhden elektronin siirtoon perustuvien hapetusreaktioiden tuotteista, ja tärkein tuote oli **53**:n C α -H-sidoksen hapettavan katkaisun kautta muodostunut ketoni **55**, joka oli samalla välituote useimmille muille hapetustuotteille.⁷⁵ Poikkeuksena oli alkeenituote **57**, joka lisäkokeiden ja myös Sonin ja Tosten aikaisempien hapetuspelkistysneutraalien hajotuskokeiden⁵¹ (näistä kerrotaan lisää kohdassa 6.4) perusteella muodostui C-O-sidoksen ei-hapettavan katkaisun kautta.⁷⁵



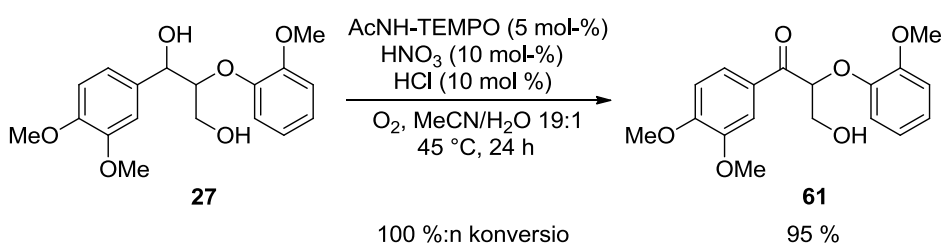
Kaavio 18. β -O-4-malliaineen 53 vanadiinikatalysoitu ilmahapetus.

6.3.3 Organokatalysoitu hapetus

Organokatalyyttien käyttöä ligniinin hapettavassa depolymeroinnissa on tutkittu vain vähän.⁷² Rahimi *et al.* kokeilivat kaksivaiheista strategiaa β -O-4-sidosten hajotukseen. He käyttivät kokeissaan stabiilia TEMPO-radikaalia ja muita vastaavia nitroksyylijohdannaisia yhdessä HNO_3 :n tai NaNO_2 :n kanssa hapettamaan ligniinin malliaineita ketoneiksi, jotka voitiin hajottaa vastaaviksi bentsoehapoiksi ja guajakoliksi (**2**) toisella hapetusreaktiolla.⁷⁶ Wangin *et al.* ehdotus ensimmäisen hapetuksen mekanismiksi on esitetty kaaviossa 19.⁷⁷ Parhaaksi yhdistelmäksi kokeissa käytetyn β -O-4-malliaineen **27** bentsyylialkoholin hapetukseen osoittautui 4-asetamido-TEMPO:n (AcNH-TEMPO), HNO_3 :n ja HCl :n yhdistelmä (kaavio 20), ja tämä katalyyttisysteemi hapetti tehokkaasti myös muita malliaineita sekä oikeaa ligniiniä.⁷⁶

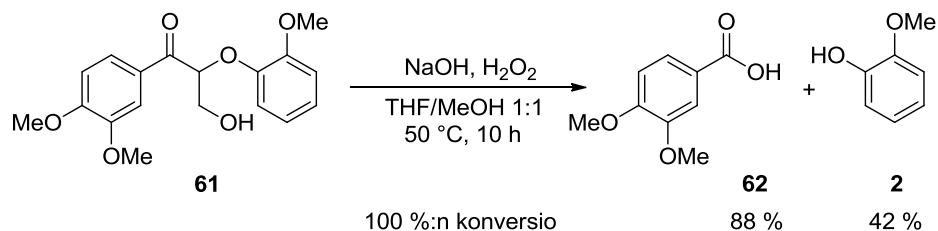


Kaavio 19. Ehdotus Rahimin *et al.* käyttämän organokatalysoidun hapetuksen mekanismiksi.

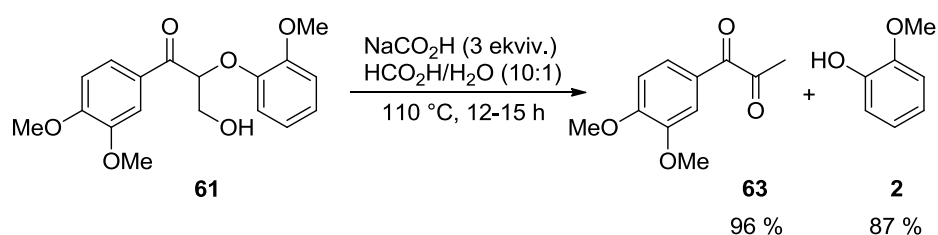


Kaavio 20. Rahimin *et al.* käyttämä malliaineen **27** hapetus ketoniksi **61**.

Ketonin **61** hajottavaan hapetukseen käytettiin H₂O₂:a emäksisissä olosuhteissa, ja tuotteina muodostui veratriinihappoa (**62**) ja guajakolia (**2**) (kaavio 21).⁷⁶ **2**:n alhaisen stabiiliuden takia Rahimi *et al.* kokeilivat myös muita reaktioita **61**:n hajotukseen. Näistä tehokkaimmaksi osoittautui natriumformiaatilla muurahaishapossa suoritettu hajotusreaktio, jossa muodostui **2**:n lisäksi diketonia **63** (kaavio 22). Samalla menetelmällä esihapetetusta ligniinistä saatiin aromaattisia yhdisteitä, kuten syringyyli- ja guajasyylidiketoneja, 52 %:n konversiolla.⁷⁸



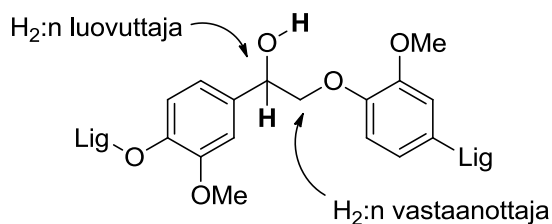
Kaavio 21. Ketonin 61 hapetus veratriinihapoksi (62) ja guajakoliksi (2).



Kaavio 22. Optimoitu reaktio β-O-4-malliaineesta hapetettujen aryyliketonien hajotukseen.

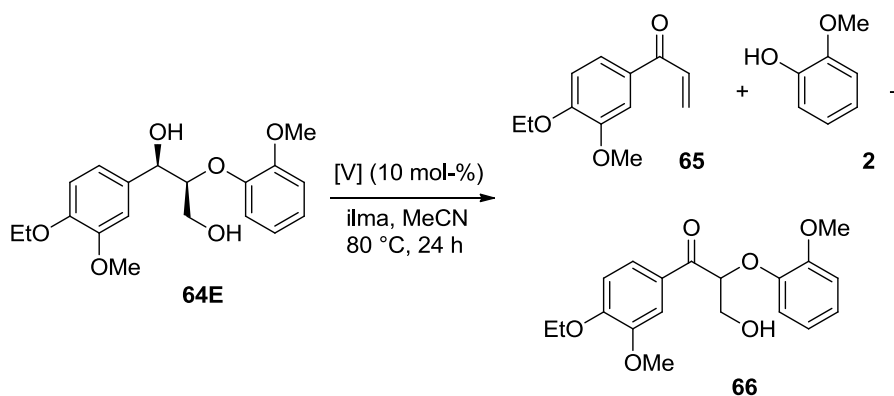
6.4 Hapetuspelkistysneutraalit menetelmät

Sekä pelkistävässä että hapettavissa depolymeroinneissa tarvitaan jokin aine, joka toimii pelkistimenä tai hapettimena ja joka samalla kuluu reaktiossa. Atomiekonomian näkökulmasta ihanteellisessa tilanteessa tällaista ainetta ei tarvittaisi ollenkaan, vaan pelkkä katalyytti riittäisi hajottamaan ligniiniä. Tällaisia menetelmiä kutsutaan hapetuspelkistysneutraaleiksi. Ligniinin β-O-4-rakenteen hapetuspelkistysneutraalissa hajotuksessa on kaksi vaihetta (kuva 13), joista ensimmäisessä bentsyylinen alkoholi hapettuu ketoniksi substraatin luovuttaessa pois kaksi vetyatomia. Toisessa vaiheessa tapahtuu C-O-sidoksen katkaiseva pelkistys, jossa vetyatomit liittyvät hiileen ja happeen. Näin kokonaisprosessi on hapetuspelkistysneutraali.²



Kuva 13. β -O-4-rakenteen hapetuspelkistysneutraalin depolymeroinnin periaate.

Toistaiseksi eräät vakuuttavimmista tuloksista hapetuspelkistysneutraalissa hajotuksessa on saavutettu vanadiinikatalyyteillä. Son ja Toste tutkivat lukuisten erilaisten vanadiinikompleksien käyttökelpoisuutta ligniinin hajotukseen ja havaitsivat, että diastereomeeripuhtaan *erythro*- β -O-4-malliaineen **64E** reaktiossa muodostui bentsyylialkoholin hapetustuotteen **66** lisäksi myös guajakolia (**2**) ja ketonia **65** hapetuspelkistysneutraalina tuotteena (kaavio 23).⁵¹

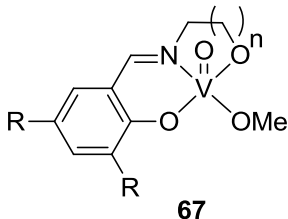


Kaavio 23. Sonin ja Tosten käyttämä malliaine 64E ja sen vanadiinikatalysoidun hajotuksen tuotteet.

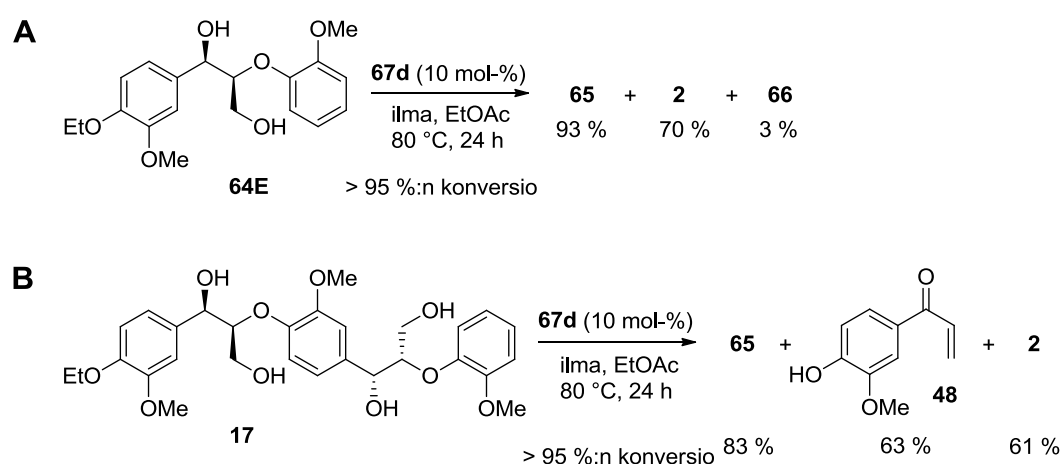
Lisäksi he havaitsivat, että kolmiampaiset Schiff-emäsligandit suosivat C-O-sidoksen katkaisua bentsyylialkoholin hapetuksen sijaan ja että ligandin tartuntakulman kasvaessa katalyytin selektiivisyys siirtyi C-O-sidoksen katkaisun

suuntaan. Ligandin *tert*-butyyli substituentit ilmeisesti estivät katalyytin aggregoitumista ja siten auttoivat katalyyttiä pysymään aktiivisena. Katalyytin **67** ligandin tartuntakulman ja substituenttien vaikutus **64E**:n konversioon ja tuotteiden saantoihin on havainnollistettu taulukossa 3.⁵¹

Taulukko 3. Vanadiinikatalyytin 67 ligandin tartuntakulman ja R-substituenttien vaikutus 64E:n konversioon ja tuotteiden saantoihin.

	[V]	n	R	Konv. (%)	65 (%)	2 (%)	66 (%)
67a	1	1	H	>95	61	45	27
67b	2	2	H	86	70	62	8
67c	1	1	<i>t</i> -Bu	95	65	50	18
67d	2	2	<i>t</i> -Bu	>95	82	57	7

Liuottimen vaihto asetonitriilistä etyyliasetaattiin paransi saantoja ja selektiivisyyttä entisestään (kaavio 24, reaktio A), ja myös trimeerisellä malliaineella **17** suoritettussa kokeessa saavutettiin hyvä konversio ja saannot (kaavio 24, reaktio B). Son ja Toste tutkivat myös hajotusreaktion mekanismia, ja heidän ehdottamansa katalyyttinen sykli reaktiolle on esitetty kaaviossa 25.⁵¹



Kaavio 24. Malliaineiden 64E ja 17 vanadiinikatalysoitu hajotus.

7.1 Kupari

Kupari on maankuoren yleisimpiin metalleihin kuuluva jalometalli. Luonnossa se voi esiintyä sekä malmeissa (esimerkiksi sulfideina) että metallisessa muodossa. Cu^0 -atomilla elektronikuoren $3d$ -orbitaalit ovat täyttyneet, ja $4s$ -orbitaalilla on yksi elektroni, jonka se helposti luovuttaa pois muodostaen Cu^I -ionin.⁸⁴ Tämä ominaisuus antaa kuparille mm. hyvän sähkönjohtavuuden ja punertavan värin.⁸⁵ Myös Cu^I luovuttaa melko helposti pois yhden $3d$ -elektroneistaan, ja vesiliuoksessa Cu^I :lla on voimakas taipumus jakautua Cu^0 :ksi ja Cu^{II} :ksi, joka on melko stabiili vesiliuoksissa. Cu^{II} muodostaa vahvasti koordinoituvien ligandien kanssa komplekseja koordinaatioluvuilla 4 ja 6.⁸⁴

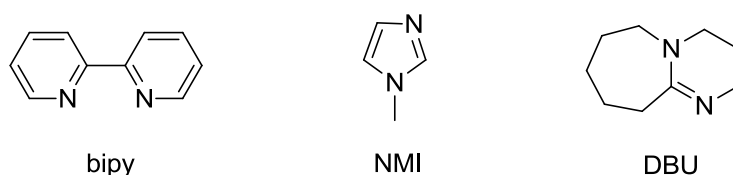
Kuparista valmistetaan mm. sähkönjohtimia, vesiputkia ja kattopeltejä, ja sen seoksia käytetään laajasti meritekniikan sovelluksissa, kuten potkureissa ja pumpuissa. Lisäksi kupari on tärkeä hivenaine ihmisen aineenvaihdunnalle, ja sitä on käytetty myös lääketieteessä tuhansien vuosien ajan. Liian suurina määrinä esim. vesistöissä se on haitallista eliöille.⁸⁴

7.2 Kupari-TEMPO-katalyyttisysteemit

Vuonna 1984 Semmelhack *et al.* osoittivat, että kuparikloridi yhdessä TEMPO:n kanssa hapettaa alkoholeja tehokkaasti. Heidän kokeissaan primääristen alkyylisten ja bentsyylisten alkoholien tehokkaaseen hapetukseen DMF:ssä hapen alla ja huoneenlämmössä riitti 10 mol-% CuCl -TEMPO:a. Sen sijaan primääristen alifaattisten alkoholien hapetukseen tarvittiin stoikiometriset määrät CuCl_2 :a ja TEMPO:a. Semmelhack *et al.* ehdottivat hapetukselle mekanismia, jossa Cu^{II} hapettaa TEMPO:n oksoammoniumioniksi (TEMPO^+), joka puolestaan hapettaa alkoholin pelkistyen samalla itse TEMPOH:ksi, jonka toinen oksoammoniumioni taas hapettaa TEMPO:ksi. Lopuksi O_2 hapettaa Cu^I :n takaisin Cu^{II} :ksi.⁸⁰

Vuonna 2003 Gamez *et al.* onnistuivat hapettamaan primääristä alifaattista 1-oktanolia käyttämällä katalyyttisiä määriä CuBr_2 :a ja TEMPO:a ja niiden lisäksi bipy:ä (kuva 14) ligandina kuparille, *t*-BuOK:a emäksenä (kaikkia edellisiä 5 mol-

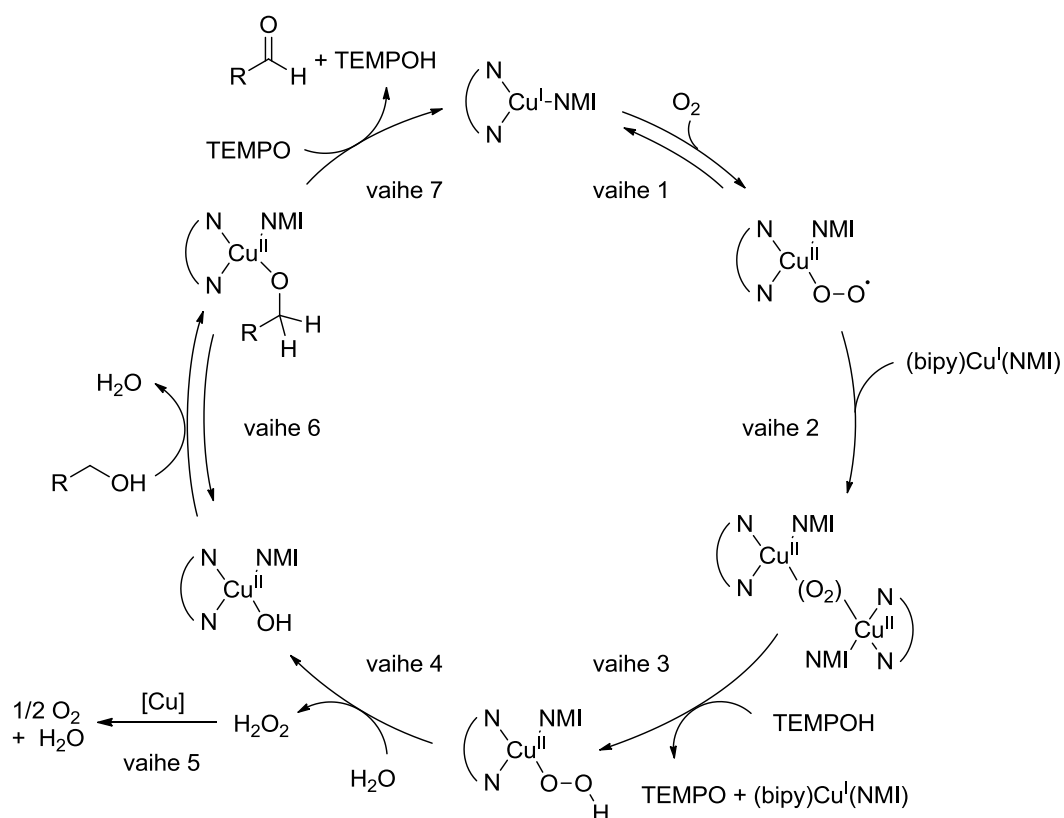
%) ja asetonitriili-vesi (2:1) -seosta liuottimena. Reaktiot suoritettiin ilmahapetuksella huoneenlämpötilassa. 1-Oktanolin hapetusreaktiot olivat kuitenkin edelleen huomattavasti hitaampia kuin bentsyylisten ja allyylisten alkoholien hapetukset.⁸¹ Dijksman *et al.* tutkivat kupari-TEMPO-reaktion mekanisme ja ehdottivat sykliä, jossa TEMPO hapettaa Cu^{I} :n Cu^{II} :ksi joka taas hapettaa alkoholin. O_2 hapettaa TEMPO:n pelkistyessä syntyneen TEMPOH:n takaisin TEMPO:ksi.⁸⁶



Kuva 14. Kuparin ligandina käytetty bipy ja emäkset NMI ja DBU.

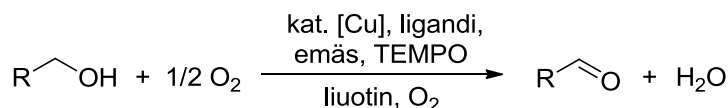
Kumpulainen ja Koskinen optimoivat Gamezin *et al.* menetelmää⁸¹ edelleen ja havaitsivat, että emäksen määrällä on suuri vaikutus reaktiossa ja että bipy:ä ja kuparikatalyyttiä tulee olla sama ainemäärä parhaan aktiivisuuden saavuttamiseksi.⁸² Reaktioissa käytettiin liuottimena asetonitriiliä, ja ne suoritettiin O_2 -ilmakehässä huoneenlämpötilassa. Mekanismitarkastelussaan Kumpulainen ja Koskinen päätyivät malliin, joka on esitetty kaaviossa 26. Monimutkainen sykli käynnistyy Cu^{II} :n pelkistyessä TEMPO:n ja vahvan emäksen avulla Cu^{I} :ksi ja samalla alkoholin hapettuessa aldehydiksi. Kupariin kiinnittynyt lähtevä ryhmä tai hydroksidi korvautuu alkoholilla, ja kaksi Cu^{I} -kompleksia hapettuu O_2 :n toimesta kahden ytimen Cu^{II} -kompleksiksi. Koordinoituneet alkoholit hapettuvat aldehydeiksi radikaalimekanismilla TEMPOH:n ja TEMPO:n avulla, ja samalla osa Cu^{II} :sta pelkistyy Cu^{I} :ksi aloittaen uuden syklin, ja osa saostuu ulos liuoksesta kiinteinä kuparisuoloina.⁸²

Hoover ja Stahl jatkoivat katalyyttisysteemin kehittämistä käyttäen kokeissaan erilaisia Cu^I-katalyyttejä yhdessä TEMPO:n ja bipy:n kanssa ja emäksinä NMI:a ja *t*-BuOK:a. Parhaiksi valinnoiksi *trans*-4-heksen-1-olin ilmahapetukseen huoneenlämpötilassa osoittautuivat CuOTf ja NMI asetonitrilissä. Katalyyttisysteemin havaittiin hapettavan erilaisia primäärisiä alkoholeja hyvällä selektiivisyydellä ja aikaisempaa paremmilla konversioilla. Kuparin vastaionin vaihtaminen toiseen ei-koordinoivaan vastaioniin kuten BF₄⁻:iin tai PF₆⁻:iin ei vaikuttanut katalyytin aktiivisuuteen.⁸³ Myös Hoover *et al.* tutkivat lisää kupari-TEMPO-reaktion mekanismia ja osoittivat oksoammoniumioniin perustuvan mekanismin vääräksi kyseiselle reaktiolle.⁸⁷ He myös esittivät oman ehdotuksensa reaktion mekanismiksi (kaavio 27)⁸⁷ ja vertailivat edellä käsiteltyjä kupari-TEMPO-katalyyttisysteemejä keskenään (taulukko 4).⁷⁹



Kaavio 27. Hooverin *et al.* ehdotus kupari-TEMPO-hapetuksen mekanismiksi.

Taulukko 4. Eri kupari-TEMPO-katalyyttisysteemien vertailua.



Katalyyttisysteemi	Cu-katalyytti	Ligandi	Emäs	Liuotin
Semmelhack <i>et al.</i> ⁸⁰	CuCl	-	-	DMF
Gamez <i>et al.</i> ⁸¹	CuBr ₂	bipy	<i>t</i> -BuOK	2:1 MeCN/H ₂ O
Kumpulainen ja Koskinen ⁸²	Cu(OTf) ₂	bipy	DBU ja NMI	MeCN
Hoover ja Stahl ⁸³	CuOTf	bipy	NMI	MeCN

Semmelhackin *et al.* menetelmällä⁸⁰ suoritettua sykloheksyyli-metanolin hapetuksen odotetusti heikko konversio parani huomattavasti bipyn käyttöön otolla.⁷⁹ Myös Gamezin *et al.* menetelmä⁸¹ oli tehoton alifaattisille alkoholeille ilman lämpötilan nostoa ja katalyyttimäärien lisäämistä.⁷⁹ Sen sijaan Kumpulaisen ja Koskisen⁸² sekä Hooverin ja Stahlin⁸³ menetelmät toimivat hyvin myös huoneenlämpötilassa.⁷⁹ Hoover *et al.* havaitsivat, että vesi liuotinseoksen osana inhiboi hapetusreaktioita mutta itse reaktioissa muodostuvan veden pitoisuus (n. 2 M) ei riitä inhibointiin.^{79,83} Samalla havaittiin veden kanssa muodostuvan [(bipy)Cu(OH)]₂(OTf)₂-kompleksia, joka tosin myös toimi katalyyttinä, kun TEMPO:a ja NMI:a lisättiin, mutta se poikkesi ominaisuuksiltaan alkuperäisestä ja saostui helposti ulos liuottimesta suurissa vesipitoisuuksissa.⁷⁹

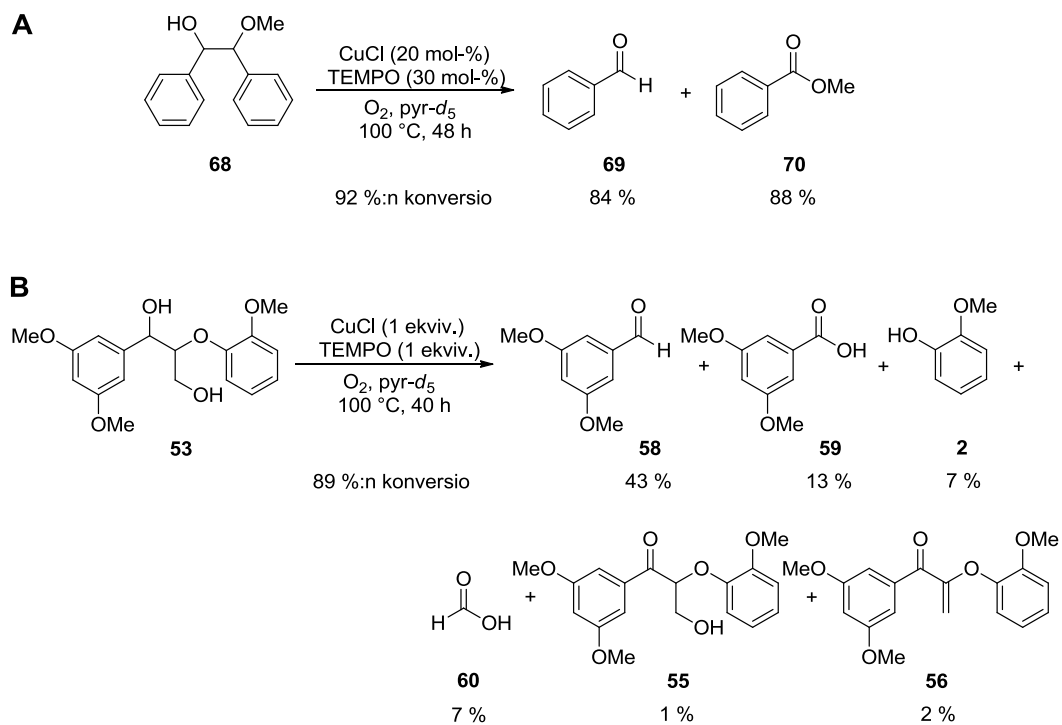
Lopulta ainoat merkittävät erot näiden neljän katalyyttisysteemin välillä olivat kuparin eri hapetusluvut eri suoloissa ja erilaiset emäkset. Cu^{II}:n tapauksessa tarvittiin tarpeeksi vahva emäs deprotonoimaan alkoholi Cu^{II}-alkoksidin muodostamiseksi, ja tässä tehtävässä DBU oli NMI:a tehokkaampi. Cu^I:n erilaisen reaktiomekanismin ansiosta sen reaktio toimi myös ilman emästä, ja NMI:n arveltiin toimivan ligandina kuparille ja mahdollisesti edesauttavan sen hapettumista.⁷⁹

7.3 Ligniinin malliaineiden hapetus kupari-TEMPO-katalyyttisysteemillä

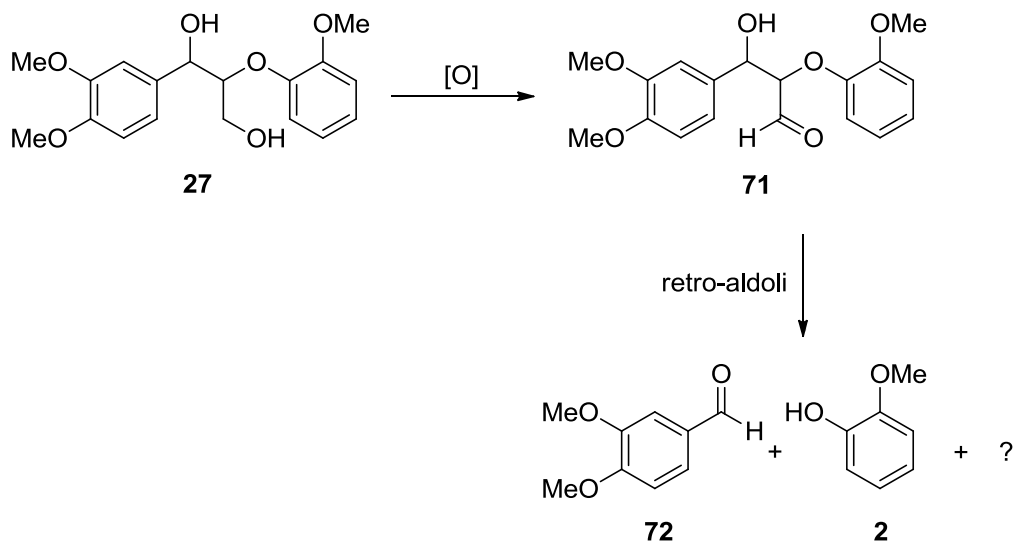
Kupari-TEMPO-katalyyttisysteemiä on käytetty myös ligniinin malliaineiden hapettamiseen. Sedai *et al.* käyttivät kokeissaan kahta erilaista malliainetta, CuCl-TEMPO-yhdistelmää ja liuottimena pyridiiniä, joka toimi samalla myös ligandina reaktioissa. Reaktiot suoritettiin 100 °C:ssa, ja aiemmin käsitellyistä vanadiinikatalyyteistä poiketen CuCl-TEMPO-reaktioille tarvittiin puhdas O₂-ilmakehä järkevän tehokkuuden saavuttamiseksi.⁷⁵

Yksinkertaisemman malliaineen **68** hapetusreaktio on esitetty kaaviossa 28 (reaktio A). Reaktiossa tapahtui C-C-sidoksen katkeaminen, jonka seurauksena tuotteina muodostui bentsaldehydiä (**69**) ja metyylibentsoaattia (**70**). Katalyyttisysteemin deaktivoitumisen vuoksi CuCl ja TEMPO jouduttiin lisäämään useissa erissä. β -O-4-malliaineelle **53** suoritettiin hapetus 1 ekvivalentilla CuCl-TEMPO:a, jolloin päästiin 89 %:n konversioon (kaavio 28, reaktio B). Reaktion tärkein tuote oli 3,5-dimetoksibentsaldehydi (**58**). Vaihtamalla ligandi pyridiinistä bipy:ksi ja käyttämällä *t*-BuOK:a emäksenä **68**:n hapetuksessa syntyi useita tuotteita, ilmeisesti vahvan emäksen aiheuttamissa sivureaktioissa.⁷⁵

Monet katalyyttisysteemit hapettavat ensin malliaineen bentsyyllisen alkoholin muodostaen ketonin, joka sitten hapettuu edelleen muiksi tuotteiksi. Kupari-TEMPO-hapetusten bentsaldehydituotteiden havaittiin kuitenkin syntyvän suoralla malliaineen C α -C β -sidoksen katkaisulla.⁷⁵ Tälle reaktiolle on esitetty kaksi mahdollista mekanismia: yhden elektronin siirtoon perustuva hajoaminen (esitettiin aikaisemmin kaaviossa 15) ja primäärisen alkoholin hapettumisen käynnistämä retro-aldolireaktio (kaavio 29).⁸⁸

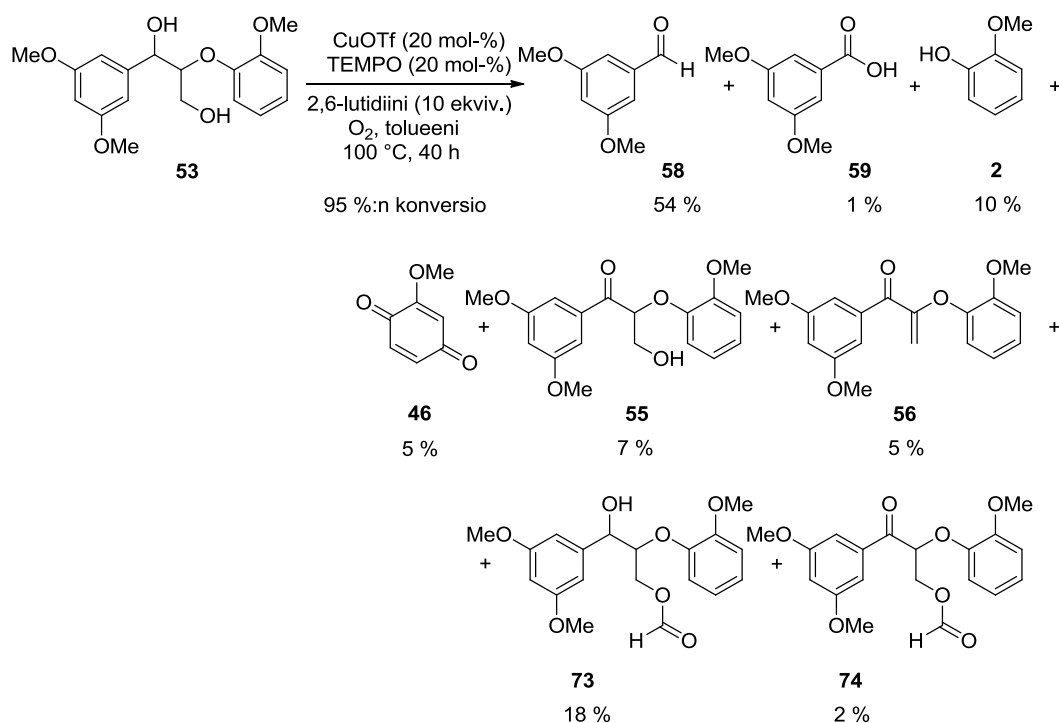


Kaavio 28. Malliaineiden 68 ja 53 CuCl-TEMPO-hapetukset.

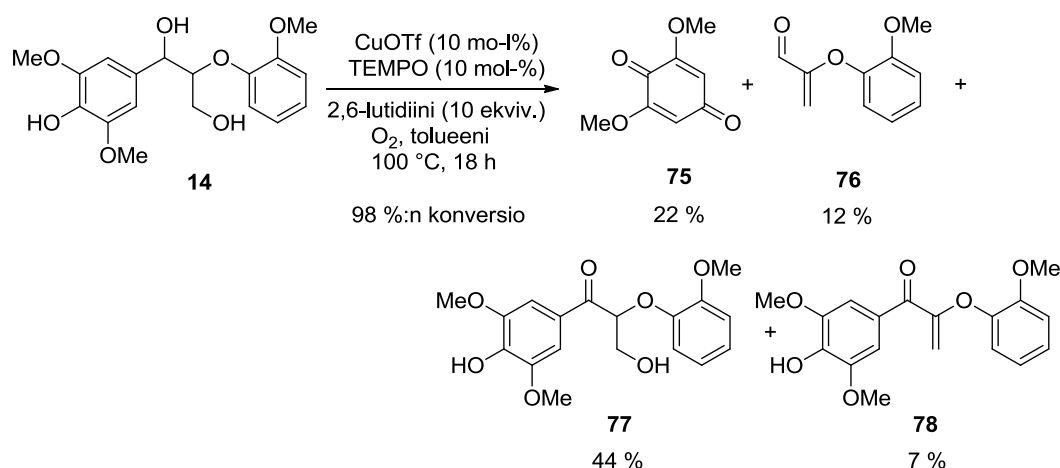


Kaavio 29. Bentsaldehydituotteen muodostuminen β -O-4-malliaineesta oletetulla retro-aldolimekanismilla.

Seuraavaksi Sedai ja Baker pyrkivät maksimoimaan **58**:n saannon **53**:n hapetuksessa kokeilemalla erilaisia kuparilähteitä, typpiligandeja ja liuottimia. Parhaat tulokset saatiin käyttämällä katalyyttinä CuOTf-TEMPO:a, ligandina 10 ekvivalenttia 2,6-lutidiiniä ja liuottimena tolueenia. Tällä yhdistelmällä suoritettu reaktio on esitetty kaaviossa 30. Myös fenolista malliainetta **14** hapetettiin samalla systeemillä, mutta reaktion tuotteissa ei havaittu bentsaldehydejä. Sen sijaan reaktioissa muodostui mm. 2,6-dimetoksibentsokinonia (**75**) ja ketonia **77**. Esimerkki **14**:n hapetuksesta on esitetty kaaviossa 31.⁵⁶



Kaavio 30. Malliaineen 53 katalyyttinen CuOTf-TEMPO-hapetus.

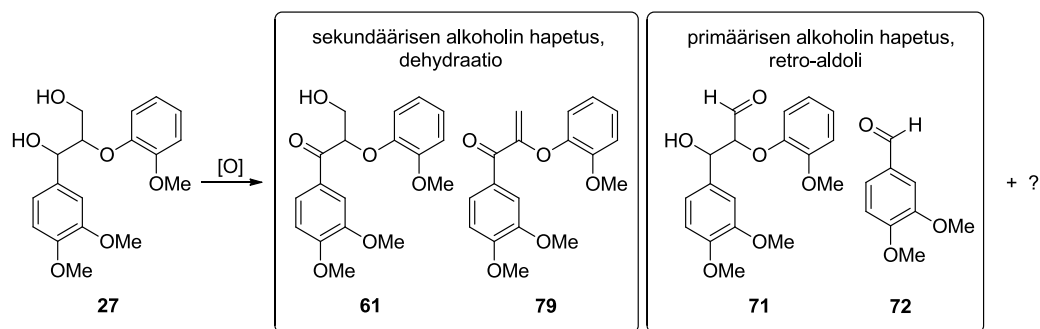


Kaavio 31. Malliaineen **14** katalyyttinen CuOTf-TEMPO-hapetus.

Hapetusreaktioissa muodostuvan guajakolin (**2**) ja sen hapetustuotteiden, kuten 2-metoksi-1,4-bentsokinonin (**46**), havaittiin erilliskokeiden perusteella deaktivoivan kuparikatalyyttiä. Deaktivoiva vaikutus perustui ilmeisesti katalyytin inhibointiin, ja **2**:n ja sen hapettumistuotteiden pienet saannot selittyivät todennäköisesti niiden reagoimisella eteenpäin muiksi tuotteiksi.⁵⁶

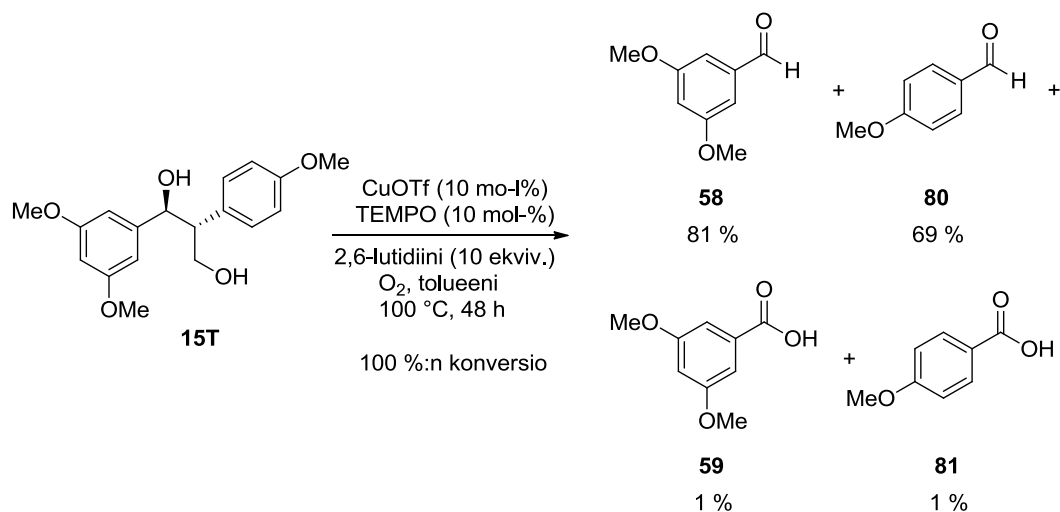
Myös Rahimi *et al.* hapettivat malliainetta **27** kupari-TEMPO-katalyyteillä. Eräitä heidän tuloksistaan on esitelty taulukossa 5. Reaktiot suoritettiin hapen alla 60 °C:ssa, ja ne kestivät 24 h. Liuottimena käytettiin asetonitriiliä. NMI:n lisäys Cu(OTf)-TEMPO-katalysoituun reaktioon paransi veratryyialdehydin (**72**) saantoa, mutta heikensi **27**:n konversiota (reaktio 2). Paras konversio **27**:lle ja saanto **72**:lle saavutettiin kuitenkin CuBr:lla ilman lisättyä emästä (reaktio 5).⁷⁶

Taulukko 5. Rahimin *et al.* malliaineen 27 Cu-TEMPO-hapetusten tuloksia.

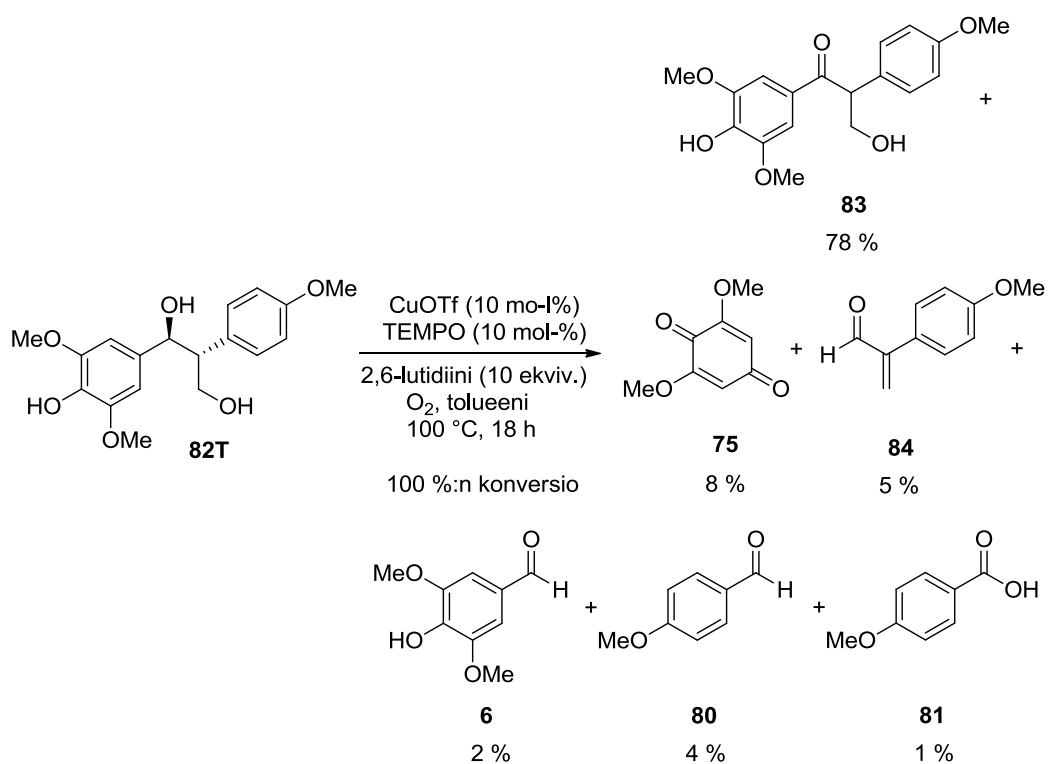


#	Cu-lähde (10 mol-%)	Ligandi (10 mol-%)	Lisäaineet (mol-%)		Konv. (%)	Saanto (%)				
			1. (10)	2.		61	79	71	72	?
1	Cu(OTf)	bipy	TEMPO	-	77	9	0	2	25	13
2	Cu(OTf)	bipy	TEMPO	NMI (20)	56	0	0	1	30	9
3	CuBr	bipy	4-OMe-TEMPO	-	78	2	26	2	30	13
4	CuBr	bipy	TEMPO	DABCO (5)	86	6	23	3	31	11
5	CuBr	bipy	TEMPO	-	89	10	0	0	37	14

Sedai *et al.* käyttivät kehittämäänsä CuOTf-TEMPO-systeemiä myös erilaisten β -1-malliaineiden hapettamiseen. Kokeissa käytettiin jälleen ei-fenolisia ja fenolisia 3,5-dimetoksimalliaineita, mutta tällä kertaa *erythro*- ja *treo*-diastereomeereille tehtiin erilliset kokeet. Ei-fenolisen *treo*-malliaineen **15T** hapetus on esitetty kaaviossa 32. Reaktiossa muodostui päätuotteina kahta erilaista bentsaldehydiä (**58** ja **80**), ja myös *erythro*-diastereomeerillä saatiin samantyyllisiä tuloksia. Fenolisen *treo*-malliaineen **82T** hapetuksessa saatiin 10 mol-%:n katalyyttimäärällä ainoana merkittävänä tuotteena bentsyyllisen alkoholin hapettuessa muodostunutta ketonia **83** (kaavio 33). Stoikiometrisellä katalyyttimäärällä saatiin eri päätuotteet: 2,6-dimetoksibentsokinoni (**75**) (82 %) ja 4-metoksibentsaldehydi (**80**) (25 %), eikä ketonia **83** yllättäen havaittu lainkaan. Sedai *et al.* suorittivat myös ei-fenolisten *erythro*- β -1- ja β -O-4- (**53**) malliaineiden (1:1) yhteisreaktion 20 mol-%:n katalyyttimäärällä, ja havaitsivat, että kokeessa β -1-malliaine reagoi β -O-4-malliainetta nopeammin.⁵⁷



Kaavio 32. β -1-malliaineen 15T katalyyttinen CuOTf-TEMPO-hapetus.



Kaavio 33. β -1-malliaineen 82T katalyyttinen CuOTf-TEMPO-hapetus.

8 Yhteenveto ja johtopäätökset

Ligniini on runsain aromaattinen luonnonpolymeeri ja kiinnostava mahdollisena aromaattisten kemikaalien uusiutuvana lähteenä. Ligniinin monimutkainen ja epäsäännöllinen rakenne ja vaihtelevat ominaisuudet kuitenkin hankaloittavat sen hyödyntämistä. Ligniinin depolymerointia on tutkittu useilla erilaisilla menetelmillä, mutta toistaiseksi niiden konversiot ja selektiivisyydet eivät ole olleet riittäviä laajamittaiseen kaupalliseen käyttöön.

Suurin osa ligniinin depolymerointiin tähtäävästä tutkimuksesta kohdistuu yleisimmän monolignolien välisen sidoksen eli β -O-4-sidoksen katalyyttiseen katkaisuun, johon kehitetyistä menetelmistä atomieconomian kannalta tehokkaimpia ovat hapetuspelkistysneutraalit menetelmät, joissa ei tarvita erillisiä pelkistimiä tai hapettimia. Myös hapetukseen perustuvia menetelmiä on tutkittu paljon, ja edistyneisimmissä ratkaisuissa käytetään ilmaa hapettimena ja yleisiä siirtymämetalleja katalyytteinä. Ihanteellisessa tilanteessa ligniinistä saataisiin eri katalyyteillä suoraan erilaisia aromaattisia kemikaaleja tarpeen mukaan. Tällaisen tilanteen saavuttamiseksi ligniinin reaktioista tarvitaan nykyistä parempi ymmärrys, jotta depolymerointia voidaan hallita ja oikeiden tuotteiden selektiivisyyttä parantaa.

Useimmat myös nykyisistä ligniinin erotukseen käytetyistä menetelmistä perustuvat α - tai β -aryylieetterien katkaisuihin, joissa muodostuneiden reaktiivisten välituotteiden välisissä kondensaatioreaktioissa syntyy uusia C-C-sidoksia. Nämä rakenteelliset muutokset heikentävät mahdollisuuksia ligniinin depolymerointiin, ja siksi tarvitaan nykyistä parempia erotusprosesseja, joissa β -O-4-rakenteet säilyvät mahdollisimman koskemattomina ja joissa ei muodostu ylimääräisiä C-C-sidoksia.

Tiellä kohti ligniinin täysimittaista hyödyntämistä on siis kaksi estettä ylitettävänä: sen erotukseen ja depolymerointiin liittyvät haasteet. Siten tarvitaan todennäköisesti vielä paljon lisää tutkimus- ja kehitystyötä, ennen kuin ligniinistä

saadaan kilpailukykyinen vaihtoehto aromaattisten kemikaalien uusiutuvana raaka-aineena.

9 Tutkimuksen toteutus ja tulokset

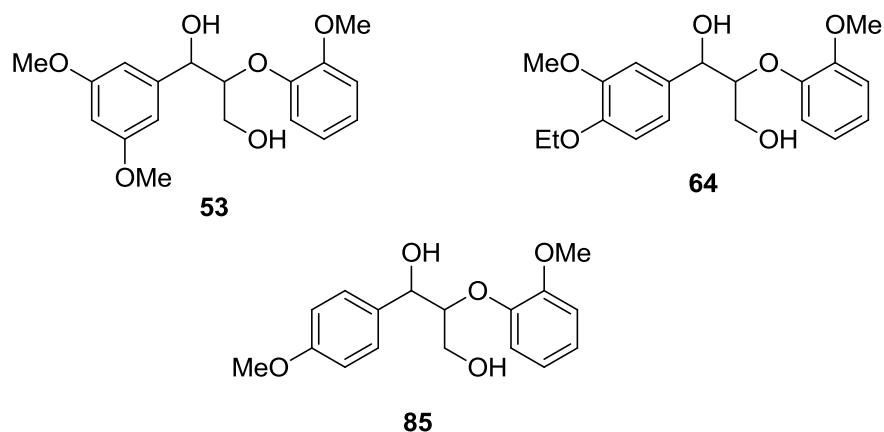
Diplomityön tutkimusosan tavoitteena oli kokeilla ligniinin β -O-4-malliaineiden kupari-TEMPO-hapetuksissa erilaisia kuparilähteitä, olosuhteita ja lisäaineita tehokkaimman yhdistelmän löytämiseksi. Ennen hapetuskokeita syntetisoitiin kokeissa käytettävät malliaineet ja valittiin sekä malliaineen konversion että reaktiotuotteiden saantojen määrittämiseen sopiva menetelmä.

9.1 Malliaineiden valinta ja synteesit

Hapetuskokeissa käytettäväksi malliaineiksi valittiin kolme diolia, jotka eroavat toisistaan toisen aryylirenkansa substituenttien osalta (kuva 15). Eri kohdissa rengasta olevat alkoksiryhmät saavat aikaan erilaiset elektroniset olosuhteet aryylirenkaseen ja samalla sen muihin substituentteihin. Luonnonmukaisesta ligniinistä poiketen diolin **53** toisessa aryylirenkassa ei ole elektroneja luovuttavaa funktionaalista ryhmää *para*- kuten ei myöskään *orto*-asemassa, eikä rengas siten luovuta merkittävästi elektronitiheyttä α -hiilen suuntaan. Sen sijaan diolien **64** ja **85** vastaavien aryylirenkaiden *para*-asemassa olevat alkoksiryhmät luovuttavat elektronitiheyttä renkaan kautta α -hiilelle. Näiden kolmen malliaineen avulla haluttiin selvittää, vaikuttavatko edellä mainitut erot elektronisissa olosuhteissa hapetusreaktioiden tuloksiin.

Alun perin harkittiin myös jonkin fenolisen malliaineen ottamista mukaan tutkimukseen. Aikaisempien tutkimusten mukaan fenolisen malliaineiden kupari-TEMPO-katalysoiduissa hapetuksissa ei kuitenkaan juuri muodostu bentsaldehydejä vaan muita tuotteita, kuten kinoneja.^{56,57} Toisaalta erilaiset bentsaldehydit kuuluvat tärkeimpiin ligniinistä saataviin tuotteisiin, joten tässäkin

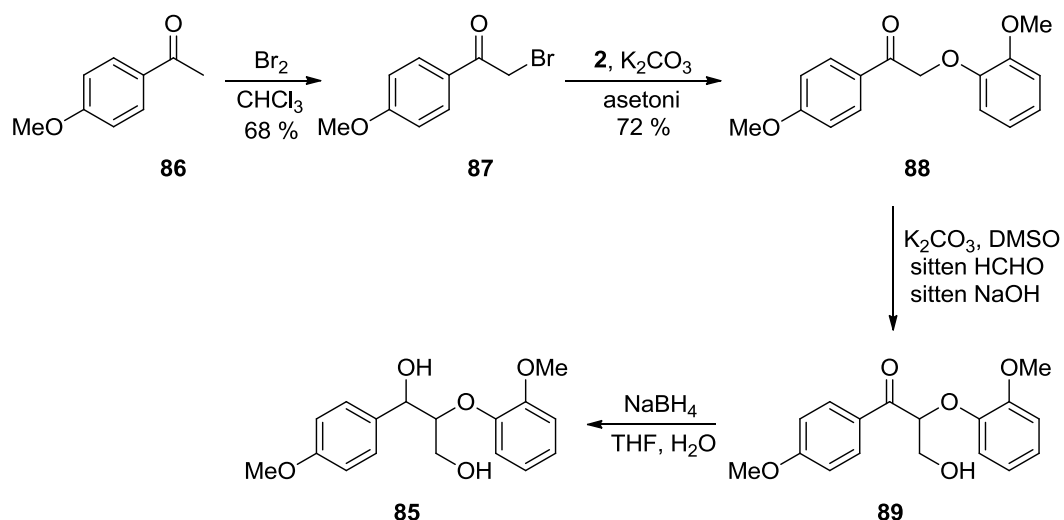
työssä katsottiin järkevimmäksi keskittyä hapetusreaktioissaan niitä muodostavien malliaineiden tutkimiseen.



Kuva 15. Syntetisoitaviksi valitut malliaineet.

Kuten aikaisemmin todettiin, oikeassa ligniinissä β -O-4-rakenne esiintyy sekä *erythro*- että *treo*-diastereomeereinä, joiden lukumäärien suhde vaihtelee. Aikaisemmissa β -O-4-malliaineiden hajotusta koskevissa tutkimuksissa on myös yleensä käytetty diastereomeeriseoksia.^{54,56,73,75,76} Lisäksi diastereomeerien erottaminen toisistaan havaittiin hankalaksi, joten tässäkin tutkimuksessa päätettiin käyttää diastereomeeriseoksia.

Diolin **85** synteisille suunniteltiin nelivaiheinen reitti,^{76,89–91} joka on esitetty kaaviossa 34. Ensimmäinen reaktio oli 4-metoksiasetofenonin (**86**) bromaus ketoniksi **87**,⁸⁹ joka puhdistettiin uudelleenkiteyttämällä MTBE:stä. Seuraavassa reaktiossa guajakoli (**2**) deprotonoitiin K_2CO_3 :lla ja liitettiin ketoniin **87** S_N2 -reaktiolla, jolloin muodostui ketoni **88**.⁹⁰ Myös **88** puhdistettiin uudelleenkiteytyksellä asetonista.

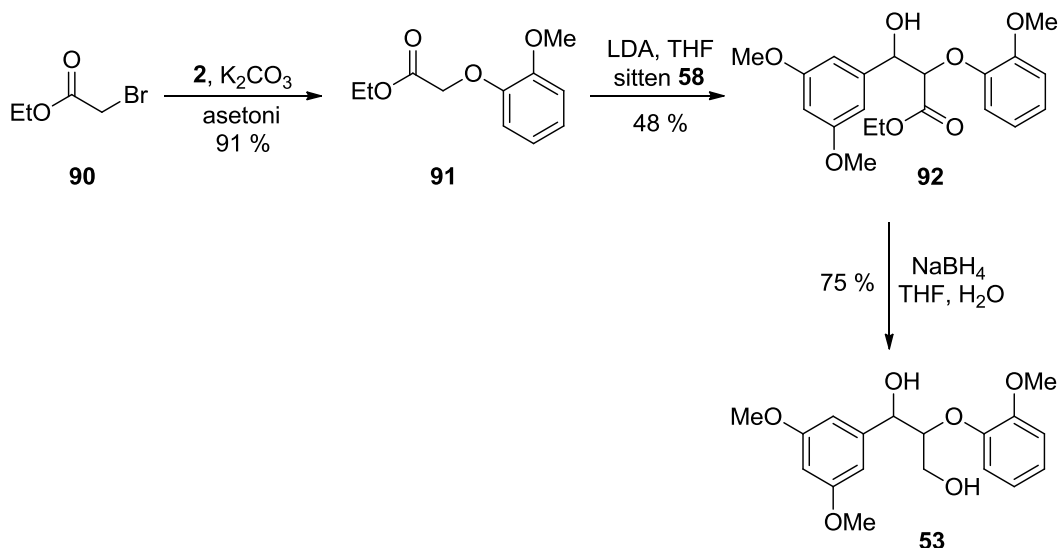


Kaavio 34. Malliaineen **85** synteesille suunniteltu nelivaiheinen reitti.

Kolmannessa reaktiossa oli tarkoitus liittää primäärinen alkoholi ketonin **88** α -hiileen deprotonoimalla se ensin K_2CO_3 :lla ja lisäämällä sen jälkeen reaktioon formaldehydiä elektrofiiliksi. Liuottimena käytettiin DMSO:a, ja reaktio tehtiin huoneenlämpötilassa.⁹¹ Reaktiosta ei aluksi saatu haluttua tuotetta **89**, koska siinä α -hiileen ilmeisesti liittyi kaksi formaldehydiä. Lopulta tuotetta **89** ilmeisesti havaittiin hyvin pieni määrä, kun reaktio pysäytettiin vesisammutuksella 5 minuutin kuluttua aloituksesta. Myös reaktion hidastamista paremmin hallittavaksi lämpötilaa laskemalla harkittiin, mutta DMSO:n korkean sulamispisteen takia silloin olisi pitänyt vaihtaa liuotinta. Aikataulu ei sallinut voimavarojen keskittämistä yhteen malliaineeseen, joten diolin **85** synteesistä luovuttiin.

Kahden muun malliaineen synteseissä käytettiin toista, yksinkertaisempaa synteesireittiä,^{91,92} joka on esitetty diolille **53** kaaviossa 35. Ensimmäisessä vaiheessa guajakoli (**2**) deprotonoitiin K_2CO_3 :lla ja liitettiin etyylibromiasetaattiin (**90**) $\text{S}_{\text{N}}2$ -reaktiolla, jolloin muodostui öljymäinen esteri **91**.⁹² Öljystä pestiin reagoimaton **2** pois 1 M NaOH -vesiliuoksella.⁹³ Toisessa reaktiossa esteristä **91** tehtiin LDA:lla litiumenolaatti, joka liitettiin aldoliadditiolla 3,5-dimetoksibentsaldehydiin (**58**).⁹¹ Tuotteen **92** öljymäisen olomuodon vuoksi se

puhdistettiin flash-kromatografialla, mutta puhdistetussakin tuotteessa havaittiin jonkin verran aldehydistä **58** pelkistynyttä 3,5-dimetoksibentsyylialkoholia. Tuotetta ei kuitenkaan puhdistettu enempää, vaan se käytettiin sellaisenaan seuraavassa reaktiossa.

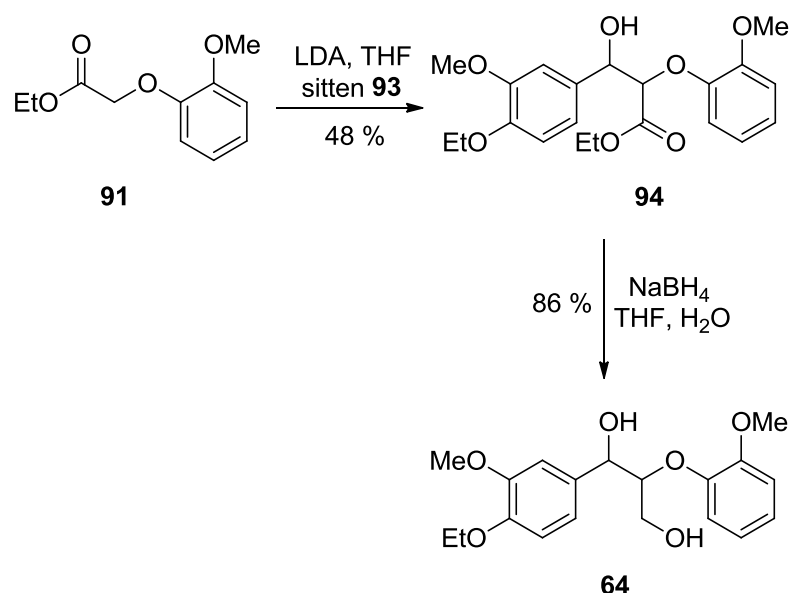


Kaavio 35. Malliaineen **53** kolmivaiheinen synteysi.

Viimeinen reaktio oli esterituotteen pelkistys NaBH_4 :lla valmiiksi malliaineeksi.⁹² Esterille **92** tämä reaktio tehtiin huoneenlämpötilassa, ja laimennuksen ja suodatuksen jälkeen orgaanisesta faasista saatu öljymäinen raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla. Raakatuotteessa oli melko runsaasti 3,5-dimetoksibentsyylialkoholia, ja puhdistetulle malliaineelle **53** saatiin pelkistysreaktiosta vain 75 %:n saanto. **92**:n tai **53**:n hajoamista bentsyylialkoholiksi reaktion aikana pidettiin epätodennäköisenä mutta kuitenkin mahdollisena.

Malliaineen **64** synteessin (kaavio 36) toisessa reaktiossa käytettiin aldehydin **58** sijaan 4-etoksi-3-metoksibentsaldehydiä (**93**), ja siinä muodostui esteri **94**. Raakatuote sisälsi 4-etoksi-3-metoksibentsyylialkoholia, eikä siitäkään päästy kokonaan eroon flash-kromatografialla. **94**:n pelkistyksessä pyrittiin kuitenkin

minimoimaan bentsyylialkoholin mahdollinen lisämuodostuminen laskemalla reaktiokolvin lämpötila 0 °C:een ennen NaBH₄:n lisäystä, joka tehtiin hyvin hitaasti. Reaktion jälkeen suoritettiin samat toimenpiteet kuin **53**:n synteesissä. Puhdistetun malliaineen **64** saanto pelkistysreaktiosta oli edellistä parempi; 86 %. Diolin **53** *erythro-treo*-suhde vaihteli eri valmistuskerroilla 3:1:n ja 7:1:n välillä, ja diolilla **64** suhde oli joka kerta 3:1. Hapetuskokeissa käytettiin selkeyden vuoksi kuitenkin vain 3:1 *erythro-treo*-seoksia. Kokeissa käytetyn **53**:n puhtaus oli 94 % ja **64**:n puhtaus 96 %.



Kaavio 36. Malliaineen 64 synteesi.

9.2 Katalyyttisysteemin ja reaktioiden mittakaavan valinta

Hapetuskokeiden katalyyttisysteemiksi valittiin primääristen alkoholien hapetuksessa tehokkaaksi osoittautunut Cu(bipy)-TEMPO-systeemi, jonka kuparilähteenä oli tarkoitus kokeilla erilaisia Cu^I- ja Cu^{II}-suoloja. Lisäksi oli tarkoitus tutkia NMI:n sekä muutamien lisäainesuolojen vaikutusta hapetusreaktioihin. Kokeet oli tarkoitus suorittaa ensin yhdellä malliaineella, ja lopuksi kiinnostavimmat kokeet oli tarkoitus toistaa toisella malliaineella, jotta

mahdolliset erot malliaineiden reaktiivisuudessa saataisiin selville. Kokeiden mittakaavaksi valittiin 0,1 mmol, katalyyttisysteemin komponenttien ja lisäaineiden määriksi 10 mol-% kutakin ja liuottimen määräksi reaktiossa 1 ml. Tällöin punnituksesta aiheutuva virhe pysyi tarpeeksi pienenä, ja samalla malliaineita riitti useisiin kokeisiin.

9.3 Analyysimenetelmän valinta

Katalyyttikokeiden kvantitatiiviseen analysointiin käytettävän menetelmän valinnassa oli huomioitava kokeiden pieni mittakaava, suuri lukumäärä ja niissä käytettyihin kuparisuoloihin liittyvät mahdolliset rajoitukset. Perinteinen reaktiotuotteiden saantojen määrittäminen eristämällä todettiin liian hitaaksi ja epätarkaksi analyysimenetelmäksi.

Kirjallisuudessa kvantitatiivinen ^1H NMR sisäistä standardia apuna käyttäen oli ylivoimaisesti suosituin menetelmä ligniinin β -O-4-malliaineiden hajotusreaktioiden analysointiin,^{51,54,78,94} ja aikaisemmissa ligniinin malliaineiden kupari-TEMPO-hapetuksissa sisäisenä standardina oli käytetty etupäässä dimetyylisulfonia.^{56,57,75} Tällöin dimetyylisulfoni liuotettiin ennen reaktiota deuteroituun liuottimeen yhdessä malliaineen kanssa, minkä jälkeen liuokselle tehtiin kvantitatiivinen ^1H NMR -mittaus malliaineen tarkan määrän määrittämiseksi. Sen jälkeen deuteroitu liuotin joko haihdutettiin pois, ja sen tilalle lisättiin toinen liuotin, tai se itse toimi reaktioliuottimena, ja siihen lisättiin loput aineet reaktiota varten. Reaktion päätyttyä reaktioseos suodatettiin silikageelin läpi, mahdollinen deuterioimaton liuotin vaihdettiin deuteroituun NMR-liuottimeen, ja liuokselle tehtiin taas kvantitatiivinen ^1H NMR-mittaus. Lähtöaineen konversio ja tuotteiden saannot saatiin määritettyä ennen reaktiota ja sen jälkeen mitattujen spektrien piikkien pinta-aloja toisiinsa vertaamalla. Käytännön kokeissa tätä menetelmää ei saatu toimimaan, koska sisäisenä standardina käytetty dimetyylisulfoni ei antanut luotettavia tuloksia silikageelin läpi suodatettuna. Suodatusta kuitenkin tarvittiin NMR-mittausta häiritsevän kuparikatalyytin poistamiseksi.

Seuraavaksi kokeiltiin GC:n soveltuvuutta analyysimenetelmäksi. Sisäiseksi standardiksi valittiin naftaleeni. Tarkoituksena oli liuottaa malliaine ja naftaleeni reaktioliuottimeen ja ottaa liuoksesta yksi GC-näyte ennen muiden aineiden lisäämistä ja toinen näyte reaktion jälkeen. Mitatuista kromatogrammeista olisi saatu standardisuorien avulla laskettua malliaineen määrä ennen reaktiota ja sen ja tuotteiden määrä reaktion jälkeen. Samasta malliaineen **53** CH₂Cl₂-liuoksesta peräkkäin ajetuista kromatogrammeista kuitenkin havaittiin, että **53**:n antamat piikit kasvoivat usean ajon ajan, kunnes ne lopulta saavuttivat vakiotason. Kun sen jälkeen vaihdettiin edellisen tilalle laimeampi näyte, piikit vastaavasti pienenivät ennen uuden vakiotason saavuttamista. **53**:n standardisuorien kuvaajia ei saatu suoriksi millään ajo-ohjelmalla, ja **64**:n havaittiin lisäksi osittain hajoavan guajakoliksi (**2**) ja aldehydiksi **93** ajojen aikana. Näistä syistä GC-menetelmän todettiin soveltuvan reaktioseosten analysoinnissa ainoastaan suuntaa antaviin ja kvalitatiivisiin mittauksiin. GC:n jälkeen kokeiltiin vielä HPLC:tä sekä normaali- että käänteisfaasikolonnilla, mutta eri aineiden piikkejä ei saatu erottumaan toisistaan, eikä gradienttiajoja ollut mahdollista suorittaa.

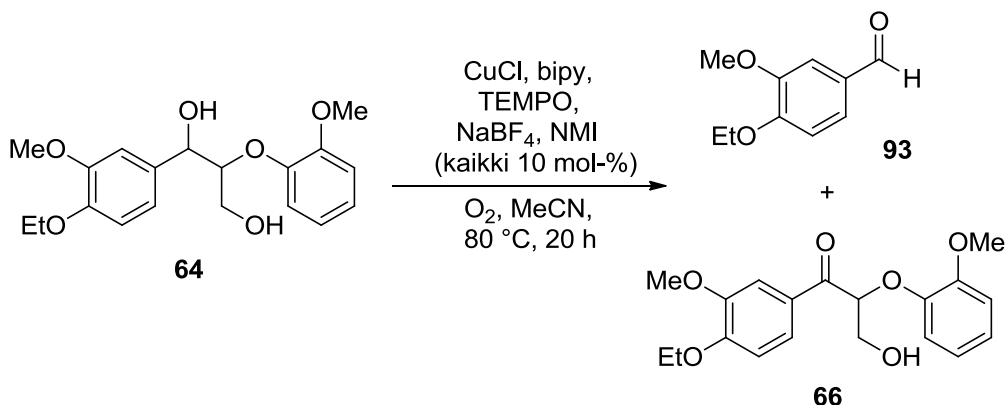
Kaikista kokeilluista analyysimenetelmistä kvantitatiivinen ¹H NMR vaikutti lupaavimmalta, joten huomio suunnattiin siihen liittyvien ongelmien ratkaisemiseen. Dimetyylisulfonin käyttöä sisäisenä standardina jatkettiin, koska sen protonien NMR-piikki osui kohtaan 2,98 ppm, jossa ei esiintynyt malliaineiden tai hapetusreaktioiden tuotteiden piikkejä. Koska silikageelisuodatus aiheutti ongelmia dimetyylisulfonin kanssa, dimetyylisulfoni päätettiin lisätä vasta suodatettuun reaktioseokseen standardiliuoksessa. Suodatuksessa käytettävän silikageelin ja eluointiin käytetyn asetonitriilin määrä valittiin niin, että malliaine ja oletetut reaktiotuotteet läpäisivät silikageelikerroksen mutta kuparisuolat jäivät siihen. Ennen reaktioita suoritettavat NMR-mittaukset jätettiin pois ja korvattiin tarkoilta malliaineen punnituksilla.

Edellä mainittujen korjausten jälkeen NMR-menetelmä osoittautui luotettavaksi, ja se voitiin ottaa käyttöön hapetuskokeiden analysoinnissa. Tosin NMR-

menetelmälläkin oli joitakin heikkouksia. Ensinnäkin kvantitointi oli mahdollista vain niille yhdisteille, joilla oli vähintään yksi C-H-protoni, jonka piikki NMR-spektrissä ei osunut muiden piikkien päälle. Tästä syystä tuoteseoksissa mahdollisesti esiintyneille karboksyylihapoille ei voitu määrittää saantoa. Toiseksi tätä NMR-menetelmää käytettäessä reaktioiden etenemistä ei voitu seurata ajan funktiona.

9.4 Suuren mittakaavan reaktio hapetustuotteiden tunnistamiseksi

Hapetusreaktioissa muodostuvista tuotteista pyrittiin saamaan kokonaiskäsitys tekemällä diolilla **64** yksi hapetuskoe muita reaktioita suuremmassa 500 mg:n mittakaavassa (kaavio 37). Reaktiossa käytettiin alustavissa kokeissa toistaiseksi parhaaksi osoittautunutta CuCl:n, bipy:n, TEMPO:n, NMI:n ja NaBF₄:n (kaikkia 10 mol-%) yhdistelmää asetonitrilissä 80 °C:ssa ja O₂:n alla. GC-analyysin mukaan 18,5 h:n kuluttua aloituksesta tuotteita ei enää muodostunut merkittävästi, joten 20 h:n reaktioajan pääteltiin olevan riittävä myös varsinaisiin hapetuskokeisiin.



Kaavio 37. Malliaineella **64** tehty reaktio hapetustuotteiden määrittämiseksi.

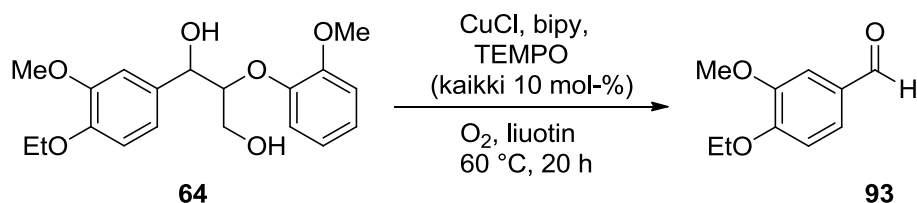
Reaktion tuotteet oli tarkoitus erottaa toisistaan flash-kromatografialla, jota varten yritettiin löytää sopivaa eluenttia TLC:n avulla, mutta sellaista ei löytynyt. Osasta reaktioseosta ajettiin preparatiivinen TLC parhaalla mahdollisella eluentilla

(CH₂Cl₂/MeOH 19:1), mutta erotus oli silti hyvin vaikea, ja juovissa esiintyi päällekkäisyyttä. Levyn juovista uutetut näytteet analysoitiin ¹H NMR:llä. Tuotteista tunnistettiin vain kaksi: päätuote **93** ja bentsyyllisen alkoholin hapetustuote **66**, jota oli vain hyvin pieni määrä. Muiden tuotteiden määrät olivat niin pieniä, ettei niitä pystytty tunnistamaan.

9.5 Hapetuskokeet

Hapetuskokeet aloitettiin reaktio-olosuhteiden optimoinnilla diolin **64** hapetukselle käyttäen kokeissa 10 mol-% CuCl:a, TEMPO:a ja bipy:ä. Kaikissa optimoinneissa pyrittiin maksimoimaan sekä malliaineen konversio että aldehydituotteen saanto. Olosuhteiden optimointi aloitettiin suorittamalla hapetuskokeita eri liuottimissa. Lämpötilaksi valittiin liuottimien kiehumispisteet huomioiden 60 °C ja kokeiden kestoksi 20 h. Kokeet tehtiin O₂-ilmakehässä, ja kunkin kokeen alussa reaktioliuosta kuplitettiin hapella 15 sekunnin ajan. Liuotinvertailun tulokset on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. Liuotinvertailun tulokset.



#	Liuotin	Konversio (%)	Saanto (%)
1	EtOAc	14	3
2	MeOH	ei määritetty ^a	3
3	tolueeni	18	8
4	MeCN	30	14
5	2-MeTHF	30	12
6	MeCN/H ₂ O (1:1)	23	16

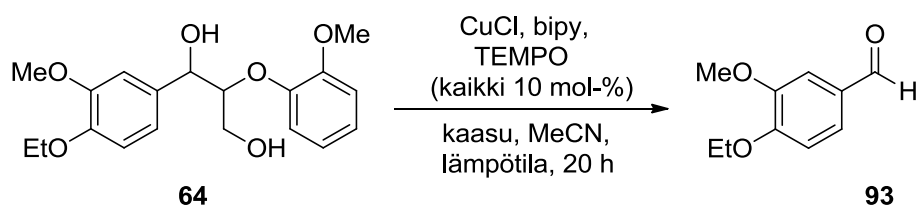
^aMalliaineen konversion määrittämiseen käytetty ¹H NMR-piikki oli peittynyt.

Parhaaksi liuottimeksi osoittautui asetonitriili, jolla saatiin **64**:lle 30 %:n

konversio ja **93**:lle 14 %:n saanto (koe 4). Myös 2-MeTHF:lla saatiin sama konversio, mutta **93**:n saanto jäi hiukan heikommaksi (koe 5). Asetonitriliin ja veden 1:1-seoksella **93**:n saanto oli yllättäen 16 %, mutta **64**:n konversio vain 23 % (koe 6).

Seuraavaksi tutkittiin lämpötilan, ilmakehän ja kuivien olosuhteiden vaikutusta hapetukseen asetonitrilissä, ja optimoiduissa olosuhteissa suoritettiin myös kontrollikokeet jättämällä katalyyttisysteemistä vuorotellen pois sen eri komponentteja. Näiden kokeiden tulokset on koottu taulukkoon 7, johon on tarkastelun selkeyttämiseksi lisätty myös taulukon 6 koe 4 (koe 2).

Taulukko 7. Lämpötila- ja ilmakehävertailun tulokset.



#	Lämpötila (°C)	Ilmakehä	Konv. (%)	Saanto (%)
1	40	O ₂	23	10
2 ^a	60	O ₂	30	14
3	80	O ₂	35	18
4	80	ilma	27	14
5	80	O ₂ ^b	36	19
6	80	argon ^b	23	10
7 ^c	80	argon	24	11
8^d	80	O₂	42	23
9 ^e	80	O ₂	0	0
10 ^f	80	O ₂	0	0
11 ^g	80	O ₂	11	1

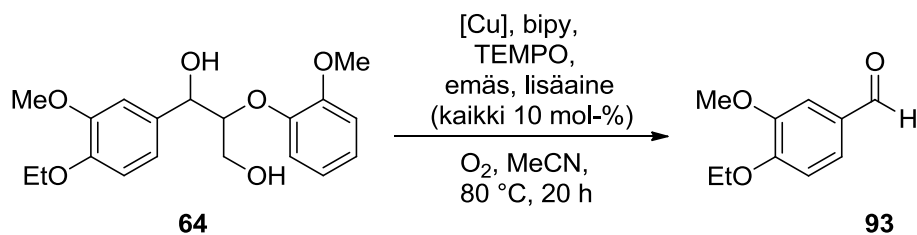
^aTaulukon 6 koe 4. ^bEi kuplitusta. ^cMeCN otettu kuivaimesta ja kuplitettu argonilla 15 min 80 °C:ssa. ^dMeCN kuivattu 4 Å:n molekyyliseuloilla. ^eKuten koe 8 mutta ei CuCl:a eikä bipy:ä. ^fKuten koe 8 mutta ei bipy:ä. ^gKuten koe 8 mutta ei TEMPO:a.

Lämpötilan vaikutus kokeiden tuloksiin oli selkeä, ja 80 °C:ssa saavutettiin toistaiseksi parhaat tulokset, joten se valittiin optimoiduksi lämpötilaksi (kokeet 1–3). Aikaisemmissa malliainetutkimuksissa⁷⁵ O₂-ilmakehä on todettu tarpeelliseksi kupari-TEMPO-hapetuksille, ja nytkin reaktion suorittaminen ilman alla heikensi tuloksia O₂-ilmakehään verrattuna (koe 4). Sen sijaan O₂-ilmakehässä kuplituksen pois jättämisellä ei ollut juuri vaikutusta tuloksiin (koe 5). Kuplitusta päätettiin kuitenkin käyttää jatkossakin varmuuden vuoksi. Yllättäen hapetusreaktio tapahtui myös argonin alla ja jopa kuivaimesta otetussa liuottimessa, jota oli ennen käyttöä sekoitettu ja kuplitettu argonilla 80 °C:ssa 15 minuutin ajan (kokeet 6 ja 7). Kaiken lisäksi molemmista kokeista saatiin lähes samat tulokset. Ilmeisesti edes keittäminen ei poistanut asetonitrilistä siihen liuennutta happea. Parhaat tulokset (konversio 42 % ja saanto 23 %) saatiin kuitenkin käyttämällä 4 Å:n molekyyliseuloilla kuivattua asetonitriliä O₂-ilmakehässä (koe 8). Näissä optimoiduissa olosuhteissa tehtiin myös kolme kontrollikoetta katalyyttisysteemin eri komponenttien tarpeellisuuden selvittämiseksi. Kun bipy jätettiin pois seoksesta, reaktiota ei tapahtunut lainkaan (kokeet 9 ja 10). Kun taas TEMPO jätettiin pois, saatiin **64:n** konversioksi 11 % ja **93:n** saannoksi vain 1 % (koe 11). Siten kaikki katalyyttisysteemin komponentit osoittautuivat odotetusti tarpeellisiksi.

Seuraava vaihe oli erilaisten kuparisuolojen vertailu ja NMI:n ja lisäaineiden vaikutusten tutkiminen tähän asti optimoiduissa olosuhteissa. Kokeiden tulokset on esitetty taulukossa 8, johon on tarkastelun selkeyttämiseksi lisätty myös taulukon 7 koe 8 (koe 1). Sekä toiset Cu^I-suolat, CuI ja CuBr, että CuBr₂ antoivat heikommat konversiot ja saannot kuin CuCl, mikä CuBr:n kohdalla oli yllättävää aikaisemmat tutkimustulokset⁷⁶ ja sen CuCl:a parempi liukoisuus huomioiden (kokeet 1–4). Ennen katalyyttisysteemiä reaktioastiaan lisätty NMI heikensi tuloksia (kokeet 5 ja 6). Sen sijaan muiden aineiden jälkeen reaktioastiaan lisätty NMI ei muuttanut CuBr₂:n antamia tuloksia, mutta yllättäen heikensi hieman CuCl:n antamia tuloksia (kokeet 7 ja 8). NMI:n määrän nostaminen 20 mol-%:iin heikensi CuCl:n antamia tuloksia entisestään.⁹⁵ NMI:n kanssa toisena Cu^{II}-suolana kokeiltiin Cu(OTf)₂:a, jolla yllättäen saatiin melko korkea konversio (73

%), vaikka **93**:n saanto pysyi alhaisena (4 %) (koe 9). Muita tuotteita ei kokeen ¹H NMR -spektristä tunnistettu, mutta kaasukromatogrammissa näkyi kaksi melko suurta tuntematonta piikkiä, joiden pitkien retentioaikojen (12,457 ja 12,622 min) perusteella kyseiset yhdisteet eivät todennäköisesti olleet β-O-4-rakenteen katkeamisessa syntyneitä tuotteita (kaasukromatogrammi liitteessä 1).

Taulukko 8. Katalyytti-, NMI- ja lisäainekokeiden tulokset.^a



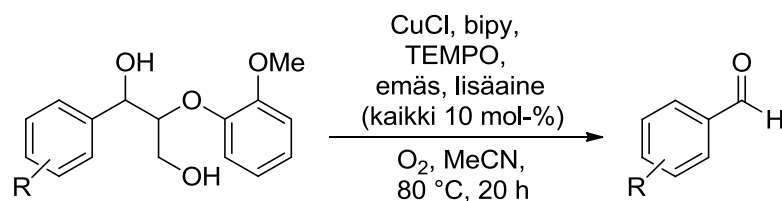
#	[Cu]	Emäs (10 mol-%)	Lisäaine (10 mol-%)	Konv. (%)	Saanto (%)
1 ^b	CuCl	-	-	42	23
2	CuI	-	-	35	19
3	CuBr	-	-	33	20
4	CuBr ₂	-	-	8	3
5	CuCl	NMI ^c	-	42	19
6	CuBr ₂	NMI ^c	-	1	1
7	CuCl	NMI	-	38	21
8	CuBr ₂	NMI	-	7	3
9	Cu(OTf) ₂	NMI	-	73	4
10	CuCl	-	NaBF₄	46	30
11	CuCl	NMI	NaBF ₄	43	23
12 ^d	CuCl	-	NaBF ₄	41	26
13^d	CuCl	NMI	NaBF₄	49	29
14 ^d	CuCl	NMI	NaPF ₆	34	28
15 ^d	CuCl	NMI	NaBPh ₄	47	13

^aMeCN kuivattu 4 Å:n molekyylisuloilla. ^bTaulukon 7 koe 8. ^cNMI lisätty ennen katalyyttisysteemiä. ^dKuivaamaton MeCN liuottimena.

Vahvempien emästen käyttöön siirtymisen sijaan päätettiin keskittyä lisäaineiden vaikutusten tutkimiseen toistaiseksi parhaaksi havaitulla CuCl-bipy-TEMPO-yhdistelmällä. NaBF₄:lla (10 mol-%) saatiin selkeä parannus sekä **64**:n konversioon (46 %) että **93**:n saantoon (30 %) (koe 10). NMI:n kanssa sama reaktio antoi jälleen hieman heikommät tulokset (koe 11). Yllättäen tilanne kuitenkin muuttui, kun liuotin vaihdettiin kuivaamattomaan asetonitriiliin, jolloin NMI:n kanssa saatiin paremmat tulokset (konversio 49 % ja saanto 29 %) kuin ilman NMI:a (kokeet 12 ja 13). NMI:n kanssa kokeiltiin myös kahta muuta lisäainetta; NaPF₆:a ja NaBPh₄:a, joista ensin mainittu antoi heikomman konversion (34 %) ja toinen heikomman saannon (13 %) kuin NaBF₄ (kokeet 14 ja 15). Tulosten perusteella kuparin vastaionien ja mahdollisten lisäaineiden ionien valinnalla on vaikutusta sekä malliaineen konversioon että bentsaldehydituotteen saantoon.

Parhaat tulokset antaneet malliaineella **64** suoritettut kokeet toistettiin **53**:lla, ja malliaineiden antamia tuloksia on vertailtu taulukossa 9. Molekyyliseuloilla kuivatussa asetonitriilissä ilman emästä ja lisäainetta suoritettussa hapetuksessa **53**:n konversio (39 %) ja aldehydin **58** saanto (18 %) olivat heikommät kuin **64**:llä saadut tulokset (42 % ja 23 %) (kokeet 1 ja 2). **53**:llä NaBF₄:n kanssa suoritetuissa kokeissa, joista toisessa käytettiin NMI:tä kuivaamattoman asetonitriilin kanssa, konversiot olivat hieman paremmat ja saannot hieman huonommat kuin vastaavissa **64**:llä tehdyissä kokeissa (kokeet 3–6). Yleisesti havaittiin, että **64**:n reaktioissa saatiin reagoinutta malliainetta kohti enemmän bentsaldehydituotetta kuin **53**:n reaktioissa.

Taulukko 9. Kiinnostavimpien aikaisemmin esiteltyjen 64:n hapetusten ja vastaavien 53:lla suoritettujen kokeiden^a tulosten vertailua.



#	Malli- aine	Emäs (10 mol-%)	Lisäaine (10 mol-%)	Konv. (%)	Aldehydi- tuote	Saanto (%)
1 ^b	64	-	-	42	93	23
2	53	-	-	39	58	18
3 ^c	64	NMI	NaBF ₄	49	93	29
4 ^d	53	NMI	NaBF ₄	53	58	26
5 ^e	64	-	NaBF ₄	46	93	30
6	53	-	NaBF ₄	50	58	27

^aMeCN kuivattu 4 Å:n molekyylisieveillä. ^bTaulukon 7 koe 8. ^cTaulukon 8 koe 13.

^dKuivaamaton MeCN liuottimena. ^eTaulukon 8 koe 10.

Kokeiden aikana joissakin reaktioseoksissa esiintyi voimakkaita värejä. DMSO:ssa, metanolissa ja asetonitrilissä CuCl ja asetonitrilissä myös toiset Cu^I-suolat saivat yhdessä bipy-ligandin kanssa aikaan voimakkaan tummanpunaisen värin, kun taas muissa liuottimissa ei tapahtunut vastaavaa värimuutosta. Alun perin punainen ja lämmitettynä ruskea MeOH-reaktioliuos muuttui jäähtyessään nopeasti vihreäksi, mutta lämmityksen jatkuessa sen väri palautui taas ruskeaksi. Ennen lämmitystä alun perin punaisen asetontriili-vesi (1:1) -reaktioliuoksen väri muuttui nopeasti ruskean ja vihreän kautta siniseksi, mutta lämmityksen alettua senkin väri palautui ruskeaksi. Oletettavasti sininen ja vihreä väri aiheutuivat Cu^{II}-ioneista. Cu^{II}-suoloista CuBr₂ värjäsikin asetonitrilin tummanvihreäksi, mutta bipy:n lisääminen sai värin katoamaan, ja sakkaa muodostui. Lisättäessä NMI:tä sakka liukeni, ja liuoksen väri muuttui oliivinvihreäksi. Cu(OTf)₂ taas muutti asetonitrililiuoksen likaisen keltaiseksi ja bipy:n lisäys vihreäksi. TEMPO:lla ja lisäaineilla ei ollut merkittävää vaikutusta reaktioliuosten väriin. Tulosten

perusteella reaktioliuosten väristä tai värittömyydestä ei voitu päätellä hapetusreaktioiden onnistumista.

Kaikissa suoritetuissa hapetuskokeissa bentsaldehydituotteen saanto oli pienempi kuin malliaineen konversio, mikä tarkoittaa, että reaktioissa syntyi myös muita tuotteita. Näitä tuotteita ei kuitenkaan juuri havaittu ^1H NMR -spektreissä, ja niiden näkymättömyydelle on useita mahdollisia syitä. Jo edellä mainittu piikkien päällekkäisyys NMR-spektrissä on näistä yksi. Kevyemmät tuotteet ovat voineet haihtua reaktioluoksesta kokeiden aikana tai viimeistään reaktioluotinta pois haihdutettaessa. Joissakin reaktioissa syntyi hiukan sakkaa, ja on mahdollista, että jotkin tuotteet polymeroituivat liukenemattomiksi yhdisteiksi, jotka jäivät silikageeliin kuparisuolojen poiston yhteydessä.

10 Jatkotutkimusehdotukset

Hapetuskokeissa ehdittiin kokeilla vain joitakin kuparisuoloja ja lisäaineita, ja konversioihin ja saantoihin jäi parantamisen varaa. Siksi kokeita voisi jatkaa uusilla yhdistelmillä. Lisäksi kokeiden tuotteista suuri osa jäi havaitsematta, ja olisi kiinnostavaa tietää, mitä nämä tuotteet ovat. Tuotteiden piikkien päällekkäisyyden ^1H NMR -spektrissä ja osin myös kevyiden tuotteiden haihtumisen voisi eliminoida käyttämällä reaktioseosten analysointiin gradientti-HPLC:tä. Tuotteiden huolellisella määrittelyksellä voitaisiin saada aikaisempaa parempi käsitys sekä β -O-4-sidosten reaktioista että kupari-TEMPO-katalyyttisysteemin toiminnasta, ja pitkällä tähtäimellä mahdollisuudet löytää toimiva ratkaisu ligniinin tehokkaaseen hyödyntämiseen paranisivat.

Malliaineista *para*-etoksisubstituoidulla diolilla **64** saatiin hiukan huonompi konversio mutta parempi saanto bentsaldehydituotteelle kuin **53**:lla. Elektronisten olosuhteiden vaikutusta ilmiössä voitaisiin selventää toistamalla kiinnostavimmat kokeet myös kolmannella malliaineella **85**, minkä vuoksi senkin syntetisointi voisi

olla kannattavaa.

Guajakolin (**2**) on epäilty inhiboivan kuparikatalyytin toimintaa, mahdollisesti toimimalla ligandina hydroksyyli- ja metoksiryhmiensä välityksellä. **2**:n roolia kuparikatalyytin deaktivoitumisessa voisi tutkia lisäämällä joihinkin kupari-TEMPO-hapetuskokeisiin jo alussa ylimääräisenä komponenttina **2**:a ja toisiin vastaaviin kokeisiin saman verran yksinkertaista fenolia (**24**), jotta mahdolliset erot niiden vaikutusten välillä havaittaisiin. Jos oletus **2**:n ligandina toimimisesta osoittautuisi paikkansa pitäväksi, tulisi pyrkiä löytämään jokin keino tämän ilmiön estämiseksi, koska suurella osalla oikeista monolignoleista on aryylirenkassaan samanlaiset ryhmät kuin **2**:lla, ja nekin saattaisivat häiritä kuparikatalysoitua ligniinin depolymerointia.

11 Kokeellinen osa

11.1 Yleistä koejärjestelyistä

Malliainesynteesien LDA-reaktiot suoritettiin liekkikuivatuissa astioissa argonin alla. *n*-BuLi:n konsentraatio määritettiin *N*-bentsyylibentsamidin titrauksella. DIPA kuivattiin tislamalla CaH₂:stä, ja kuivat THF ja asetonitriili otettiin kuivaimesta (MB SPS-800). Muut käytetyt liuottimet olivat p.a.-laatuisia. Synteesireaktioiden etenemistä seurattiin TLC-analyysillä, jossa käytettiin alumiinipohjaisia Merck silica gel 60 F₂₅₄ -levyjä. Levyjen analysoinnissa käytettiin UV-valoa ja CAM-värijäysreagenssia (2 g ammoniumceriumsulfaattia, 5 g ammoniummolybdaatti-tetrahydraattia, 180 ml tislattua vettä, 20 ml väkevää rikkihappoa). LDA-reaktioista otetut TLC-näytteet sammutettiin vedellä ja uutettiin EtOAc:lla ennen applikointia. Flash-kromatografiassa, preparatiivisessa TLC:ssä ja hapetuskokeiden suodatuksissa käytettiin Merck silica gel 60 -silikageeliä (230–400 mesh).

NMR-spektrit mitattiin Bruker Avance 400 -spektrometrillä, ja ^1H -spektrit kalibroitiin tetrametyylisilaanin (0,00 ppm) ja ^{13}C -spektrit CDCl_3 :n (77,0 ppm) mukaan. Hapetuskokeissa käytettyjen malliaineiden puhtauden määrittäminen ja kokeiden tuoteseosten analysointi suoritettiin kvantitatiivisilla ^1H NMR -mittauksilla (relaksaatioaika 15 s). Kaikissa kvantitatiivisissa mittauksissa käytettiin sisäisenä standardina dimetyylisulfonia ja joissakin kokeiltoin lisäksi TMB:tä. Dimetyylisulfonin antaman ^1H NMR -piikin (2,98 ppm) pinta-ala kalibroitiin arvoon 6, minkä jälkeen malliaineen konversio X saatiin laskettua sijoittamalla malliaineen bentsyyllisen protonin piikin (5,01–4,94 ppm) pinta-ala kaavaan 1 ja bentsaldehydituotteen saanto sijoittamalla aldehydiprotonin piikin (**93**:lla 9,85 ppm ja **58**:lla 9,91 ppm) pinta-ala kaavaan 2 (A = yhdisteen NMR-piikin pinta-ala).

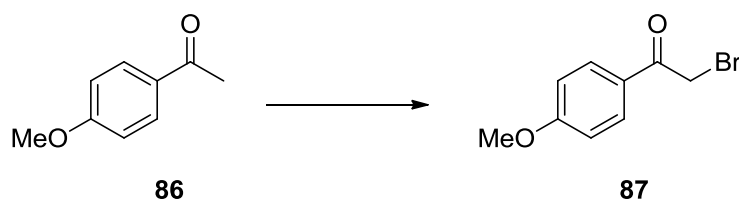
$$X_{\text{malliaine}} = (2 - A_{\text{malliaine}})/2 \cdot 100 \% \quad 1$$

$$\text{Saanto}_{\text{aldehydi}} = A_{\text{aldehydi}}/2 \cdot 100 \% \quad 2$$

GC-näytteet valmistettiin CH_2Cl_2 :iin, ja GC-analyysit suoritettiin liekki-ionisaatiodektoilla varustetulla Shimadzu GC-2010 Plus -kaasukromatografilla, jossa käytettiin Phenomenexin ZB-5MSi-kolonnia (mitat 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Kaikissa ajoissa käytettiin seuraavaa ohjelmaa: uuni 2 min 50 °C:ssa, lämmitys 20 °C/min 150 °C:seen, lämmitys 30 °C/min, 3 min 300 °C:ssa. Injektori- ja detektorilämpötila olivat kumpikin 300 °C, ja kantajakaasuna käytettiin typpeä (virtausnopeus kolonnissa 2,10 ml/min).

11.2 Malliainesynteesit

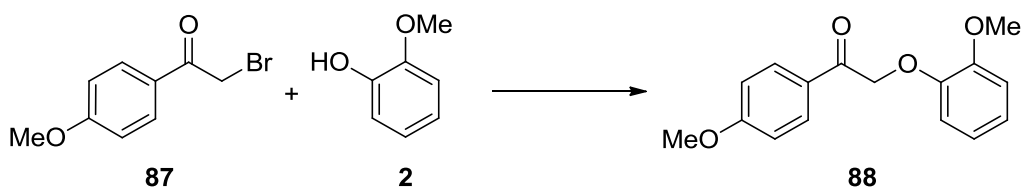
2-bromo-4'-metoksiasetofenoni **87**⁸⁹



4-metoksiasetofenoni (**86**) (18,0 g, 120 mmol, 100 mol-%) liuotettiin CHCl₃:iin (210 ml), ja liuokseen lisättiin Br₂ (6,1 ml, 120 mmol, 100 mol-%) tipoittain 25 min ajan ja 40 °C:n lämpötilassa samalla sekoittaen. Sitten liuos laimennettiin Et₂O:lla (400 ml) ja orgaanista faasia pestiin NaHCO₃:lla (4 x 200 ml). Orgaaninen faasi kuivattiin MgSO₄:lla, suodatettiin ja liuottimet haihdutettiin pois, jolloin jäljelle jäi kiinteää ainetta. Tuote **87** uudelleenkiteytettiin MTBE:stä, ja punaisia kiteitä saatiin 18,6 g (68 %).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8,00–7,94 (m, 2H), 6,99–6,94 (m, 2H), 4,40 (s, 2H), 3,89 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) 189,9, 164,1, 131,3, 126,9, 114,1, 55,6, 30,7. Spekitriedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁹⁶.

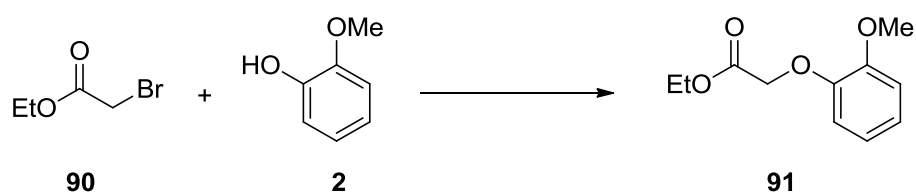
2-(2-metoksifenoksi)-1-(4-metoksifenyyli)etanoni **88**⁹⁰



Ketonin **87** (9,16 g, 40 mmol, 100 mol-%), K₂CO₃:n (8,18 g, 59,2 mmol, 148 mol-%), **2**:n (5,5 ml, 49,2 mmol, 123 mol-%) ja asetonin (166 ml) seosta refluksottiin 17 h:n ajan, minkä jälkeen reaktioseos suodatettiin seliitin läpi. Suodoksesta haihdutettiin liuotin pois, jolloin jäljelle jäi keltaista, kiinteää ainetta. Tuote **88** uudelleenkiteytettiin asetonista, ja kellertäviä kiteitä saatiin 7,81 g (72 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) 8,05–7,99 (m, 2H), 6,99–6,89 (m, 4H), 6,87–6,82 (m, 2H), 5,28 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,88 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) 193,1, 163,9, 149,7, 147,6, 130,5, 127,7, 122,3, 120,8, 114,7, 113,9, 112,2, 72,0, 55,9, 55,5. Spektritiedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁹⁴.

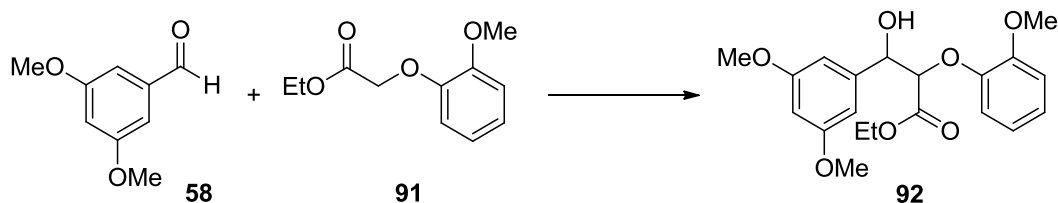
Etyyli-2-(2-metoksifenoksi)asettaatti **91**^{92,93}



Yhdisteet **2** (3,51 g, 28,2 mmol, 100 mol-%) ja **90** (3,13 ml, 28,2 mmol, 100 mol-%) ja K_2CO_3 (3,90 g, 28,2 mmol, 100 mol-%) lisättiin asetoniin (140 ml) ja sekoitettiin keskenään. Seosta refluksoitii 22,5 h, minkä jälkeen se jäähdytettiin huoneenlämpöön ja suodatettiin sintterin läpi. Suodoksesta haihdutettiin liuotin pois, minkä jälkeen siihen lisättiin EtOAc:a (70 ml). Orgaanista faasia pestiin 1 M NaOH-vesiliuoksella (3 x 10 ml), vedellä (10 ml) ja kylläisellä NaCl-vesiliuoksella (10 ml). Orgaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla, suodatettiin ja liuotin haihdutettiin pois. Kellertävää, öljymäistä tuotetta saatiin 5,41 g (91 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) 6,98 (ddd, 1H, $J = 8,1, 6,9, 1,9$ Hz), 6,94–6,82 (m, 3H), 4,68 (s, 2H), 4,26 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 3,88 (s, 3H), 1,28 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) 169,0, 149,7, 147,3, 122,5, 120,7, 114,5, 112,1, 66,6, 61,2, 55,8, 14,1. Spektritiedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁹³.

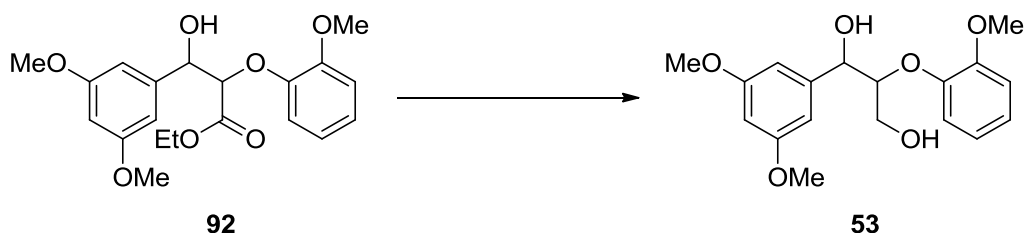
Etyyli-3-hydroksi-3-(3,5-dimetoksifenyyli)-2-(2-metoksifenoksi)propanoaatti
92⁹¹



Kuivattu DIPA (0,57 ml, 4,0 mmol, 100 mol-%) liuotettiin kuivaan THF:iin (4,4 ml) argonin alla. Sitten liuoksen lämpötila laskettiin -70 °C:een, ja siihen lisättiin *n*-BuLi (2,23 ml, 100 mol-%, 1,8 M) tipoittain ja samalla sekoittaen. Sekoitusta jatkettiin 30 min, minkä jälkeen kolviin lisättiin esteri **91** (0,76 ml, 4,0 mmol, 100 mol-%) tipoittain 15 min ajan. 1 h sekoituksen jälkeen lisättiin aldehydi **58** (666 mg, 4,0 mmol, 100 mol-%) ja jatkettiin sekoitusta -70 °C:ssa vielä 3 h 40 min, minkä jälkeen lämpötilan annettiin nousta n. 0 °C:een, reaktio sammutettiin vedellä, ja tuote uutettiin EtOAc:iin (3 x 30 ml). Orgaaninen faasi kuivattiin MgSO₄:lla ja suodatettiin. Liuottimet haihdutettiin pois, ja keltainen, öljymäinen raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla (EtOAc/heksaani 50:50). Kellertävää, öljymäistä tuotetta saatiin 722 mg (48 %), ja ¹H NMR -analyysin perusteella sen puhtaus oli n. 90 % ja *erythro*-*treo*-suhde 4:1. Tätä tuotetta ei puhdistettu enempää, vaan se käytettiin sellaisenaan seuraavassa reaktiossa.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7,05–6,97 (m, 1H), 6,96–6,80 (m, 3H), 6,63 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, *erythro*), 6,58 (d, 2H, *J* = 2,2 Hz, *treo*), 6,41–6,35 (m, 1H), 5,15 (t, 1H, *J* = 5,2 Hz, *erythro*), 5,05 (dd, 1H, *J* = 6,8, 3,1 Hz, *treo*), 4,73 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz, *erythro*), 4,51 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz, *treo*), 4,14 (q, 2H, *J* = 7,1 Hz, *erythro*), 4,09 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz, *treo*), 3,88–3,82 (m, 3H), 3,80–3,74 (m, 6H), 1,15 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, *erythro*), 1,09 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, *treo*); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) *erythro*: 169,1, 160,5, 150,5, 147,1, 141,4, 123,9, 121,0, 118,8, 112,3, 104,8, 100,1, 83,7, 74,0, 61,2, 55,8, 55,2, 14,0. Spektritiedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁷⁵ ¹H NMR-spektrin osalta.

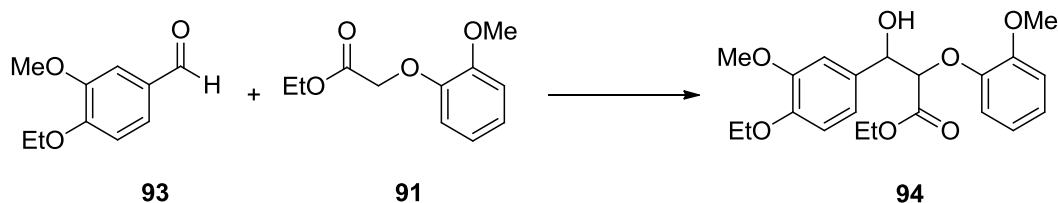
1-(3,5-dimetoksifenyyli)-2-(2-metoksifenoksi)-1,3-propaanidioli 53⁹²



Esterin **92** (1,50 g, 3,98 mmol, 100 mol-%, *erythro-treo*-suhde 7:1), THF:n (1,5 ml) ja veden (0,5 ml) seokseen huoneenlämpötilassa lisättiin hitaasti NaBH₄ (876 mg, 23,16 mmol, 582 mol-%) samalla sekoittaen. Sekoitusta jatkettiin yön yli. Sitten seokseen lisättiin EtOAc:a (25 ml) ja vettä (15 ml), ja kiinteä aines suodatettiin pois. Seokseen lisättiin vielä EtOAc:a (30 ml), ja orgaanisesta faasista haihdutettiin liuottimet pois. Öljymäinen raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla (EtOAc/heksaani 50:50). Sameaa, öljymäistä tuotetta saatiin 1,00 g (75 %), ja ¹H NMR -analyysin perusteella sen puhtaus oli 94 % ja *erythro-treo*-suhde 7:1.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7,14–7,01 (m, 2H) 6,98–6,90 (m, 2H), 6,62 (d, 2H, *J* = 2,3 Hz, *treo*), 6,54 (dd, 2H, *J* = 2,3, 0,6 Hz, *erythro*), 6,40 (t, 1H, *J* = 2,3 Hz, *treo*), 6,37 (t, 1H, *J* = 2,3 Hz, *erythro*), 5,01–4,94 (m, 1H), 4,21–4,16 (m, 1H, *erythro*), 4,08–4,02 (m, 1H, *treo*), 3,96–3,87 (m, 4H, *erythro*, 3H, *treo*), 3,80–3,76 (m, 6H), 3,68–3,59 (m, 1H, *erythro*, 2H, *treo*), 3,57–3,50 (m, 1H) 2,71–2,63 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) *erythro*: 160,9, 151,6, 146,7, 142,2, 124,3, 121,7, 121,1, 112,2, 103,9, 99,6, 87,2, 72,8, 60,6, 55,9, 55,3. Spekitritiedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁷⁵.

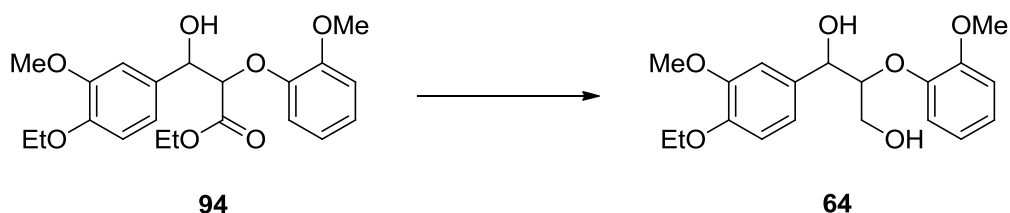
**Etyyli-3-hydroksi-3-(4-etoksi-3-metoksifenyyli)-2-(2-metoksifenoksi)propano-
aatti **94****



Kuivattu DIPA (3,86 ml, 27,4 mmol, 110 mol-%) liuotettiin kuivaan THF:iin (40 ml) argonin alla. Sitten liuoksen lämpötila laskettiin -70 °C:een ja siihen lisättiin *n*-BuLi (18,95 ml, 110 mol-%, 1,45 M) tipoittain 20 min ajan, samalla sekoittaen. Sekoitusta jatkettiin 30 min, minkä jälkeen kolviin lisättiin kuivalla THF:lla (25 ml) laimennettu esteri **91** (5,26 g, 25,0 mmol, 100 mol-%) tipoittain 45 min ajan. Sitten lisättiin kuivaan THF:iin (13 ml) liuotettu aldehydi **93** (4,50 g, 25,0 mmol, 100 mol-%) tipoittain 25 min ajan. Sekoitusta jatkettiin -70 °C:ssa 2 h, minkä jälkeen lämpötilan annettiin nousta n. 0 °C:een ja reaktio sammutettiin kylläisellä NH₄Cl-vesiliuoksella (32 ml). Tuote uutettiin EtOAc:iin (3 x 16 ml), ja orgaaninen faasi kuivattiin Na₂SO₄:lla ja suodatettiin. Liuottimet haihdutettiin pois ja keltainen, öljymäinen raakatuote puhdistettiin flash-kromatografiolla (EtOAc/heksaani 40:60), jolloin saatiin 4,72 g (48 %) kellertävää öljyä, jonka puhtaus oli ¹H NMR-analyysin perusteella n. 91 % ja *erythro*-*treo*-suhde 3:1. Tuotetta ei puhdistettu enempää, vaan se käytettiin sellaisenaan seuraavassa reaktiossa.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7,07–6,80 (m, 7H), 5,14 (t, 1H, *J* = 5,5 Hz, *erythro*), 5,06 (dd, 1H, *J* = 7,2, 3,1 Hz, *treo*), 4,74 (d, 1H, *J* = 5,0 Hz, *erythro*), 4,48 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz, *treo*), 4,17–4,03 (m, 4H), 3,90–3,83 (m, 6H, *erythro*, 7H, *treo*), 3,68 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, *erythro*), 1,45 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz), 1,15 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, *erythro*), 1,06 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, *treo*); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) *erythro*: 169,3, 150,6, 149,0, 148,1, 147,2, 131,6, 123,9, 121,1, 119,3, 118,9, 112,3, 112,2, 110,4, 83,9, 73,8, 64,3, 61,2, 55,8, 55,8, 14,8, 14,1.

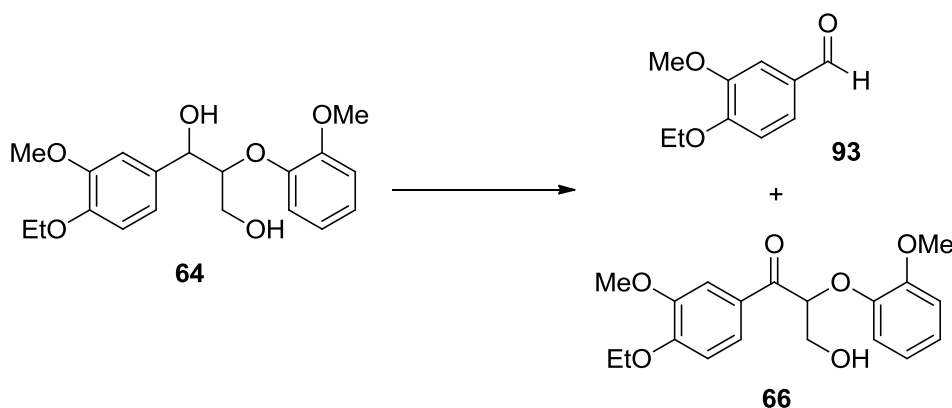
1-(4-etoksi-3-metoksifenyyli)-2-(2-metoksifenoksi)-1,3-propaanidioli **64⁹²**



Esterin **94** (4,30 g, 11,00 mmol, 100 mol-%, *erythro-treo*-suhde 3:1), THF:n (7,5 ml) ja veden (2,5 ml) seoksen lämpötila laskettiin 0 °C:een ja seokseen lisättiin NaBH₄ (2,29 g, 60,53 mmol, 550 mol-%) varovasti pienissä osissa ja samalla sekoittaen. Jäähäuteen annettiin sulaa itsekseen, ja sekoitusta jatkettiin yön yli. Sitten reaktioseokseen lisättiin EtOAc:a (65 ml) ja vettä (40 ml), ja seoksesta suodatettiin kiinteät aineet pois. Seosta uutettiin EtOAc:lla (3 x 30 ml), ja orgaanisesta faasista haihdutettiin liuottimet pois. Öljymäinen raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla (EtOAc/heksaani 60:40). Hiukan kellertävää, öljymäistä tuotetta saatiin 3,30 g (86 %), ja ¹H NMR -analyysin perusteella sen puhtaus oli 96 % ja *erythro-treo*-suhde 3:1.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 7,15–6,81 (m, 7H), 5,01–4,95 (m, 1H), 4,19–4,13 (m, 1H, *erythro*), 4,09 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, *treo*), 4,09 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, *erythro*), 4,03 (dt, 1H, *J* = 8,0, 3,7 Hz, *treo*), 3,96–3,83 (m, 7H, *erythro*, 6H, *treo*), 3,71–3,60 (m, 1H, *erythro*, 2H, *treo*), 3,53–3,43 (m, 1H), 2,79–2,68 (m, 1H), 1,45 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz), *erythro*: 151,6, 149,3, 147,8, 146,9, 132,3, 124,2, 121,6, 121,1, 118,4, 112,5, 112,2, 109,4, 87,5, 72,7, 64,3, 60,8, 56,0, 55,9, 14,8. Spekitritiedot vastaavat kirjallisuudessa annettuja arvoja⁹³.

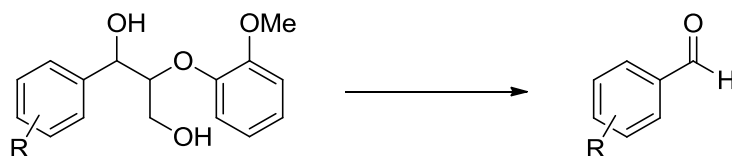
11.3 Suuren mittakaavan hapetusreaktio



Malliaine **64** (500 mg, 1,44 mmol, 100 mol-%) liuotettiin asetonitriliin (14,5 ml), minkä jälkeen liuokseen lisättiin CuCl (14,2 mg, 0,14 mmol, 10 mol-%), NaBF₄ (15,8 mg, 0,14 mmol, 10 mol-%), bipy (22,4 mg, 0,14 mmol, 10 mol-%), TEMPO (22,4 mg, 0,14 mmol, 10 mol-%) ja NMI (11 µl, 0,14 mmol, 10 mol-%). Seosta kuplitettiin hapella 1 min ajan, minkä jälkeen sekoitusta jatkettiin hapen alla (ilmapallo) ja 80 °C:n lämpötilassa. Noin 18 h:n kuluttua aloituksesta reaktioseokseen lisättiin 92,0 mg naftaleenia sisäiseksi standardiksi, ja seoksesta otettiin GC-näyte. Toinen GC-näyte otettiin 19,5 h:n kuluttua aloituksesta, ja GC-ajojen perusteella reaktion eteneminen oli lähes pysähtynyt. 20 h:n kuluttua aloituksesta sekoitus pysäytettiin, ja seoksen annettiin jäähtyä huoneenlämpötilaan. Jäähtynyt reaktioseos suodatettiin pasteur-pipetissä 5 mm:n silikageelikerroksen läpi, ja silikageeli huuhdeltiin vielä asetonitrilillä (10 ml). Suurin osa liuottimesta haihdutettiin pois, tummanruskea öljymäinen raakatuote analysoitiin preparatiivisella TLC:llä, ja muodostuneet juovat uutettiin kukin erikseen EtOAc:lla, joka sitten haihdutettiin pois. Ketoni **66** tunnistettiin ¹H NMR-spektristä kirjallisuusarvojen⁵¹ avulla, ja aldehydin **93** spektritiedot on esitetty alla.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9,85 (s, 1H), 7,46–7,40 (m, 2H), 6,97 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 4,20 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz), 3,94 (s, 3H), 1,52 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). Spektritiedot vastaavat puhtaasta aineesta mitatun vertailuspektrin arvoja.

11.4 Hapetuskokeiden suoritus



Malliaine (0,1 mmol, 100 mol-%) liuotettiin valittuun liuottimeen (0,5 ml) 7 ml:n uunikuivatussa viallissa. Sen jälkeen liuokseen lisättiin kuparikatalyytti (0,01 mmol, 10 mol-%), mahdollinen lisäaine (0,01 mmol, 10 mol-%), bipy (1,6 mg, 0,01 mmol, 10 mol-%) ja TEMPO (1,6 mg, 0,01 mmol, 10 mol-%), jokaisen lisäyksen jälkeen viallia hieman ravistaen. Sitten vialliin lisättiin 0,5 ml joko puhdasta liuotinta tai NMI-liuosta (0,02 M, 10 mol-%), jolla huuhdeltiin viallin seinät. Seosta kuplitettiin hapella 15 sekuntia (ellei toisin mainittu), minkä jälkeen astia suljettiin septumilla. Sitten seosta sekoitettiin valitun kaasun alla (ilmapallo) ja valitussa lämpötilassa 20 h:n ajan. Reaktion jälkeen muut liuottimet kuin asetonitriili haihdutettiin pyöröhaihduttimella ja korvattiin asetonitriilillä (1 ml). Seos suodatettiin pasteur-pipetissä silikageelin (1,5 cm:n kerros), hiekan (0,5 cm:n kerros) ja pumpulin läpi. Reaktiovialli huuhdeltiin asetonitriilillä (4 x 0,3 ml) ja lopuksi myös silikageeli pestiin asetonitriilillä (1 ml). Suodatettuun liuokseen lisättiin 1 ml dimetyylisulfonin 0,05 M (ja joissakin kokeissa myös TMB:n tai naftaleenin) asetonitriililiuosta. Mahdolliset ylimääräiset GC-näytteet otettiin tässä vaiheessa. Sitten liuotin haihdutettiin pois pyöröhaihduttimella, ja tuote liuotettiin CDCl_3 :iin (1,8 ml) NMR-analyysiä varten. Aldehydi **58** tunnistettiin tuoteseosten ^1H NMR-spektreistä vertaamalla niitä puhtaan aldehydin spektriin.

12 Lähteet

1. Hanson, S. K.; Baker, R. T.; Gordon, J. C.; Scott, B. L.; Thorn, D. L. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 5611–5618.
2. Kärkäs, M. D.; Matsuura, B. S.; Monos, T. M.; Magallanes, G.; Stephenson, C. R. J. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 1853–1914.
3. Agbor, V. B.; Cicek, N.; Sparling, R.; Berlin, A.; Levin, D. B. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 675–685.
4. Laurichesse, S.; Avérous, L. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39*, 1266–1290.
5. Gosselink, R. J. A.; de Jong, E.; Guran, B.; Abächerli, A. *Ind. Crops Prod.* **2004**, *20*, 121–129.
6. Zakzeski, J.; Bruijninx, P. C. A.; Jongerius, A. L.; Weckhuysen, B. M. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3552–3599.
7. Pandey, M. P.; Kim, C. S. *Chem. Eng. Technol.* **2011**, *34*, 29–41.
8. Chatel, G.; Rogers, R. D. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2014**, *2*, 322–339.
9. Jongerius, A. L.; Bruijninx, P. C. A.; Weckhuysen, B. M. *Green Chem.* **2013**, *15*, 3049–3056.
10. Dorrestijn, E.; Laarhoven, L. J. J.; Arends, I. W. C. E.; Mulder, P. J. *Anal. Appl. Pyrolysis* **2000**, *54*, 153–192.
11. Ritter, S. K. *Chem. Eng. News* **2008**, *86* (49), 15.
12. ten Have, R.; Teunissen, P. J. M. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3397–3413.
13. Brebu, M.; Vasile, C. *Cellul. Chem. Technol.* **2010**, *44*, 353–363.
14. Ralph, J.; Lundquist, K.; Brunow, G.; Lu, F.; Kim, H.; Schatz, P. F.; Marita, J. M.; Hatfield, R. D.; Ralph, S. A.; Christensen, J. H.; Boerjan, W. *Phytochem. Rev.* **2004**, *3*, 29–60.
15. Lora, J. H.; Glasser, W. G. *J. Polym. Environ.* **2002**, *10*, 39–48.
16. Lignin. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* [Online]; Wiley-VCH, julkaistu 15.7.2007. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14356007.a15_305.pub3/full (luettu 19.5.2016).

17. Pouteau, C.; Dole, P.; Cathala, B.; Averous, L.; Boquillon, N. *Polym. Degrad. Stab.* **2003**, *81*, 9–18.
18. Li, J.; Henriksson, G.; Gellerstedt, G. *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 3061–3068.
19. Vanholme, R.; Demedts, B.; Morreel, K.; Ralph, J.; Boerjan, W. *Plant Physiol.* **2010**, *153*, 895–905.
20. Chakar, F. S.; Ragauskas, A. J. *Ind. Crops Prod.* **2004**, *20*, 131–141.
21. Adler, E. *Wood Sci. Technol.* **1977**, *11*, 169–218.
22. Calvo-Flores, F. G.; Dobado, J. A. *ChemSusChem* **2010**, *3*, 1227–1235.
23. Akiyama, T.; Magara, K.; Matsumoto, Y.; Meshitsuka, G.; Ishizu, A.; Lundquist, K. *J. Wood Sci.* **2000**, *46*, 414–415.
24. Hauteville, M.; Lundquist, K.; von Unge, S. *Acta Chem. Scand.* **1986**, *40B*, 31–35.
25. Goring, D. A. I. Polymer properties of lignin and lignin derivatives. In *Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions*; Sarkanen, K. V., Ludwig C. H., toim.; Wiley-Interscience: New York, 1971; s. 729–739.
26. Martínez, A. T.; Speranza, M.; Ruiz-Dueñas, F. J.; Ferreira, P.; Camarero, S.; Guillén, F.; Martínez, M. J.; Gutiérrez, A.; del Río, J. C. *Int. Microbiol.* **2005**, *8*, 195–204.
27. Saito, T.; Perkins, J. H.; Vautard, F.; Meyer, H. M.; Messman, J. M.; Tolnai, B.; Naskar, A. K. *ChemSusChem* **2014**, *7*, 221–228.
28. Strassberger, Z.; Tanase, S.; Rothenberg, G. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 25310–25318.
29. Wörmeyer, K.; Ingram, T.; Saake, B.; Brunner, G.; Smirnova, I. *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*, 4157–4164.
30. Pinkert, A.; Goeke, D. F.; Marsh, K. N.; Pang, S. *Green. Chem.* **2011**, *13*, 3124–3136.
31. Stevanovic, T. Chemical Composition and Properties of Wood. In *Lignocellulosic Fibers and Wood Handbook: Renewable Materials for Today's Environment*; Belgacem, N., Pizzi, A., toim.; Wiley-Scrivener: Hoboken, NJ, 2016; s 88–90.
32. Gierer, J. *Wood Sci. Technol.* **1980**, *14*, 241–266.

33. Sannigrahi, P.; Pu, Y.; Ragauskas, A. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **2010**, *2*, 383–393.
34. Tan, S. S. Y.; MacFarlane, D. R.; Upfal, J.; Edye, L. A.; Doherty, W. O. S.; Patti, A. F.; Pringle, J. M.; Scott, J. L. *Green Chem.* **2009**, *11*, 339–345.
35. Lange, H.; Decina, S.; Crestini, C. *Eur. Polym. J.* **2013**, *49*, 1151–173.
36. Bugg, T. D. H.; Rahmanpour, R. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2015**, *29*, 10–17.
37. Zhao, X.; Cheng, K.; Liu, D. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *82*, 815–827.
38. Macfarlane, A. L.; Prestidge, R.; Farid, M. M.; Chen, J. J. J. *Chem. Eng. J.* **2009**, *148*, 15–19.
39. McDonough, T. J. *Tappi J.* **1993**, *76*, 186–193.
40. da Costa Sousa, L.; Chundawat, S. P. S.; Balan, V.; Dale, B. E. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2009**, *20*, 339–347.
41. Tomás-Pejó, E.; Alvira, P.; Ballesteros, M.; Negro, M. J. Pretreatment Technologies for Lignocellulose-to-Bioethanol Conversion. In *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes*; Pandey, A., Larroche, C., Ricke, S., Dussap, C.-G., Gnansounou, E., toim.; Academic Press: Kidlington, Oxford, U.K., 2011; s 164–165.
42. Ikeda, T.; Holtman, K.; Kadla, J. F.; Chang, H.-m.; Jameel, H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 129–135.
43. Meshitsuka, G.; Isogai, A. Chemical Structures of Cellulose, Hemicelluloses, and Lignin. In *Chemical Modification of Lignocellulosic Materials*; Hon, D. N.-S., toim.; Marcel Dekker: New York, 1996; s 22.
44. Ragauskas, A. J.; Beckham, G. T.; Bidy, M. J.; Chandra, R.; Chen, F.; Davis, M. F.; Davison, B. H.; Dixon, R. A.; Gilna, P.; Keller, M.; Langan, P.; Naskar, A. K.; Saddler, J. N.; Tschaplinski, T. J.; Tuskan, G. A.; Wyman, C. E. *Science* **2014**, *344*, 1246843.
45. Sheldon, R. A.; Lau, R. M.; Sorgeddrager, M. J.; van Rantwijk, F. *Green Chem.* **2002**, *4*, 147–151.
46. Ji, W.; Ding, Z.; Liu, J.; Song, Q.; Xia, X.; Gao, H.; Wang, H.; Gu, W. *Energy Fuels* **2012**, *26*, 6393–6403.
47. Gupta, C.; Washburn, N. R. *Langmuir* **2014**, *30*, 9303–9312.

48. Borges da Silva, E. A.; Zabkova, M.; Araújo, J. D.; Cateto, C. A.; Barreiro, M. F.; Belgacem, M. N.; Rodrigues, A. E. *Chem. Eng. Res. Des.* **2009**, *87*, 1276–1292.
49. <http://www.vanillin.com> (lueettu 28.7.2016).
50. Lersch, M. The Opportunities for Biorefineries. Esitetty BIOREF-INTEG Workshop -seminaarissa [Online], Solihull, U.K., 2.12.2009.
http://www.bioref-integ.eu/fileadmin/bioref-integ/user/documents/Martin_Lersch_Borregaard_-_Creating_value_from_wood_-_The_Borregaard_biorefinery.pdf (lueettu 20.6.2016).
51. Son, S.; Toste, F. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3791–3794.
52. Patil, N. D.; Tanguy, N. R.; Yan, N. Lignin Interunit Linkages and Model Compounds. In *Lignin in Polymer Composites*; Faruk, O., Sain, M., toim.; William Andrew: Kidlington, Oxford, U.K., 2015; s 30.
53. Deuss, P. J.; Barta, K. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *306*, 510–532.
54. Feghali, E.; Cantat, T. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 862–865.
55. Sergeev, A. G.; Hartwig, J. F. *Science* **2011**, *332*, 439–443.
56. Sedai, B.; Baker, R. T. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 3563–3574.
57. Sedai, B.; Díaz-Urrutia, C.; Baker, R. T.; Wu, R.; Silks, L. A.; Hanson S. K. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 3111–3122.
58. Huber, G. W.; Iborra, S.; Corma, A. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 4044–4098.
59. Ferdous, D.; Dalai, A. K.; Bej, S. K.; Thring, R. W. *Energy Fuels* **2002**, *16*, 1405–1412.
60. Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D. H.; Zheng, C. *Fuel* **2007**, *86*, 1781–1788.
61. Azadi, P.; Inderwildi, O. R.; Farnood, R.; King, D. A. *Renew. Sustainable Energy Rev.* **2013**, *21*, 506–523.
62. Yoshida, T.; Oshima, Y.; Matsumura, Y. *Biomass Bioenergy* **2004**, *26*, 71–78.
63. Osada, M.; Sato, T.; Watanabe, M.; Adschiri, T.; Arai, K. *Energy Fuels* **2004**, *18*, 327–333.
64. Roberts, V. M.; Stein, V.; Reiner, T.; Lemonidou, A.; Li, X.; Lercher, J. A. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 5939–5948.

65. Sergeev, A. G.; Webb, J. D.; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 20226–20229.
66. Sánchez, C. *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 185–194.
67. Brown, M. E.; Chang, M. C. Y. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *19*, 1–7.
68. Bugg, T. D. H.; Ahmad, M.; Hardiman, E. M.; Singh, R. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2011**, *22*, 394–400.
69. Christopher, L. P.; Yao, B.; Ji, Y. *Front. Energy Res.* **2014**, *2*, Article 12.
70. Camarero, S.; Sarkar, S.; Ruiz-Dueñas, F. J.; Martínez, M. J.; Martínez, A. T. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 10324–10330.
71. Castro, L.; Crawford, L.; Mutengwa, A.; Götze, J. P.; Bühl, M. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2385–2389.
72. Ma, R.; Xu, Y.; Zhang, X. *ChemSusChem* **2015**, *8*, 24–51.
73. Zhu, C.; Ding, W.; Shen, T.; Tang, C.; Sun, C.; Xu, S.; Chen, Y.; Wu, J.; Ying, H. *ChemSusChem* **2015**, *8*, 1768–1778.
74. Hanson, S. K.; Baker, R. T.; Gordon, J. C.; Scott, B. L.; Silks, L. A.; Thorn, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17804–17816.
75. Sedai, B.; Díaz-Urrutia, C.; Baker, R. T.; Wu, R.; Silks, L. A.; Hanson S. K. *ACS Catal.* **2011**, *1*, 794–804.
76. Rahimi, A.; Azarpira, A.; Kim, H.; Ralph, J.; Stahl, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 6415–6418.
77. Wang, X.; Liu, R.; Jin, Y.; Liang, X. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2679–2685.
78. Rahimi, A.; Ulbrich, A.; Coon, J. J.; Stahl, S. S. *Nature* **2014**, *515*, 249–252.
79. Hoover, J. M.; Ryland, B. L.; Stahl, S. S. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 2599–2605.
80. Semmelhack, M. F.; Schmid, C. R.; Cortés, D. A.; Chou, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3374–3376.
81. Gamez, P.; Arends, I. W. C. E.; Reedijk, J.; Sheldon, R. A. *Chem. Commun.* **2003**, 2414–2415.
82. Kumpulainen, E. T. T.; Koskinen, A. M. P. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10901–10911.

83. Hoover, J. M.; Stahl, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16901–16910.
84. Copper. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* [Online]; John Wiley & Sons, julkaistu 17.12.2010. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471238961.0315161607051518.a01.pub3/full> (luettu 27.5.2016).
85. <http://www.conductivity-app.org/single-article/cu-overview> (luettu 28.7.2016).
86. Dijkstra, A.; Arends, I. W. C. E.; Sheldon, R. A. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3232–3237.
87. Hoover, J. M.; Ryland, B. L.; Stahl, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2357–2367.
88. Tarbanko, V. E.; Fomova, N. A.; Kuznetsov, B. N.; Ivanchenko, N. M.; Kudryashev, A. V. *React. Kinet. Catal. Lett.* **1995**, *55*, 161–170.
89. Clive, D. L. J.; Hisaindee, S.; Coltart, D. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9247–9254.
90. Nichols, J. M.; Bishop, L. M.; Bergman, R. G.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12554–12555.
91. Cho, D. W.; Parthasarathi, R.; Pimentel, A. S.; Maestas, G. D.; Park, H. J.; Yoon, U. C.; Dunaway-Mariano, D.; Gnanakaran, S.; Langan, P.; Mariano, P. S. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 6549–6562.
92. Hanson, S. K.; Wu, R.; Silks, L. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3410–3413.
93. Buendia, J.; Mottweiler, J.; Bolm, C. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13877–13882.
94. Nguyen, J. D.; Matsuura, B. S.; Stephenson, C. R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1218–1221.
95. Ilmiö havaittiin omassa tutkimusryhmässä tehdyissä kokeissa.
96. Jiang, Q.; Sheng, W.; Guo, C. *Green Chem.* **2013**, *15*, 2175–2179.

13 Liitteet

Liite 1: Taulukon 8 kokeen 9 ja taulukon 7 kokeen 3 tuoteseosten GC-grammit

Liite 2: Yhdisteen **87** ^1H - ja ^{13}C -spektrit

Liite 3: Yhdisteen **88** ^1H - ja ^{13}C -spektrit

Liite 4: Yhdisteen **91** ^1H - ja ^{13}C -spektrit

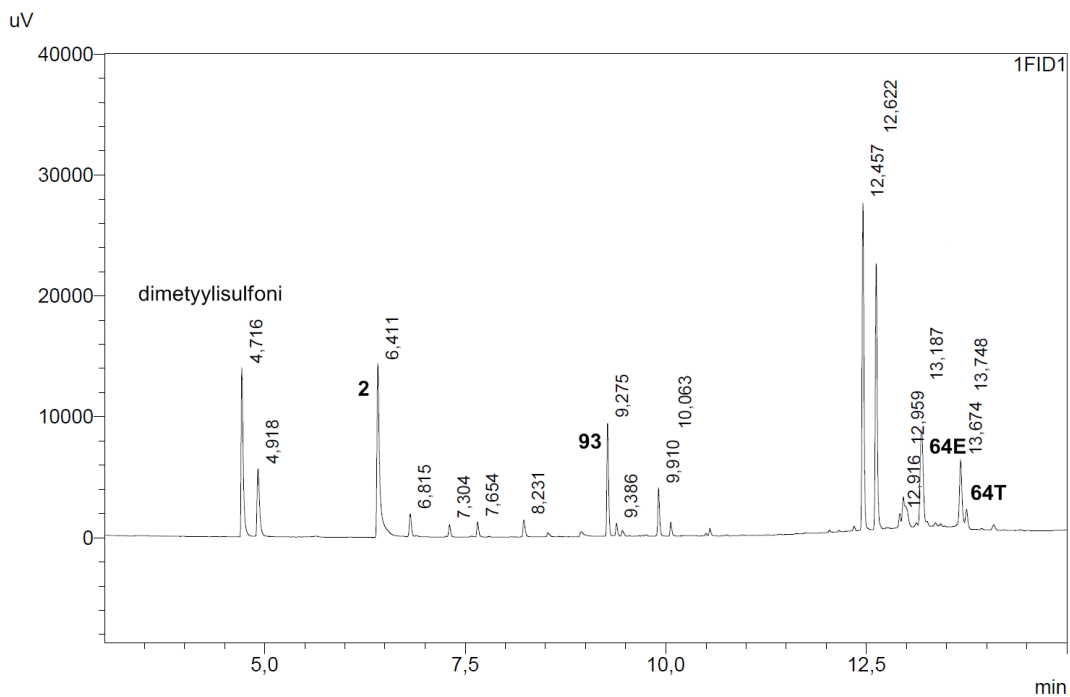
Liite 5: Yhdisteen **53** ^1H - ja ^{13}C -spektrit

Liite 6: Yhdisteen **64** ^1H - ja ^{13}C -spektrit

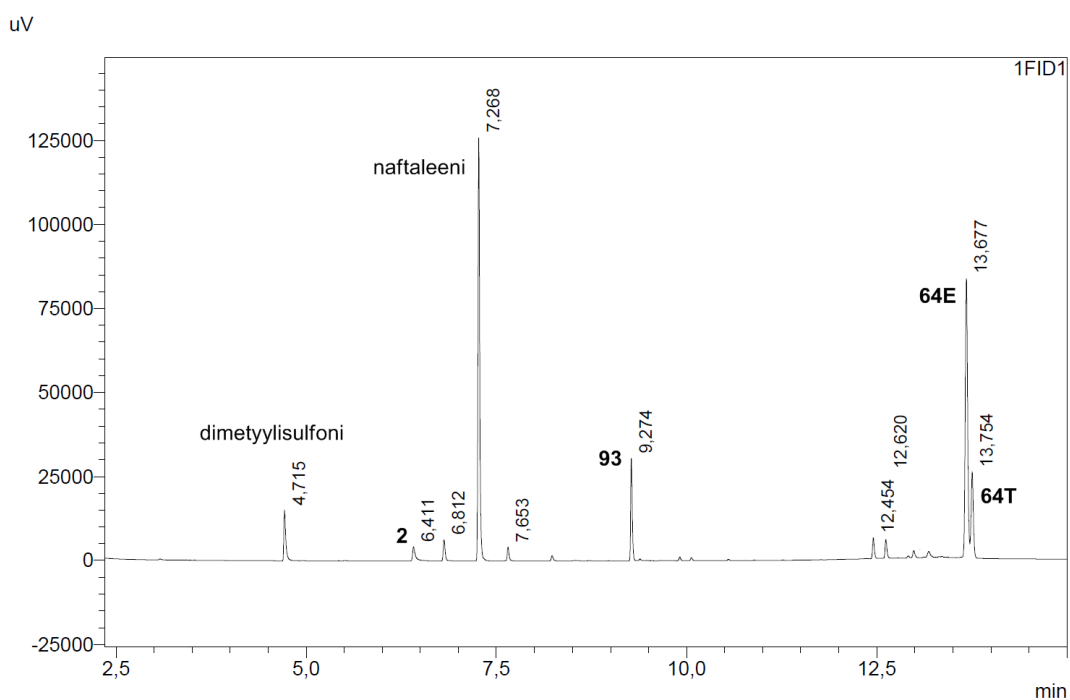
Liite 7: Taulukon 8 kokeen 12 ja taulukon 9 kokeen 4 tuoteseosten ^1H -spektrit

Liite 1. Taulukon 8 kokeen 9 ja taulukon 7 kokeen 3 tuoteseosten GC-grammit

Taulukon 8 kokeen 9 tuoteseoksen kaasukromatogrammi

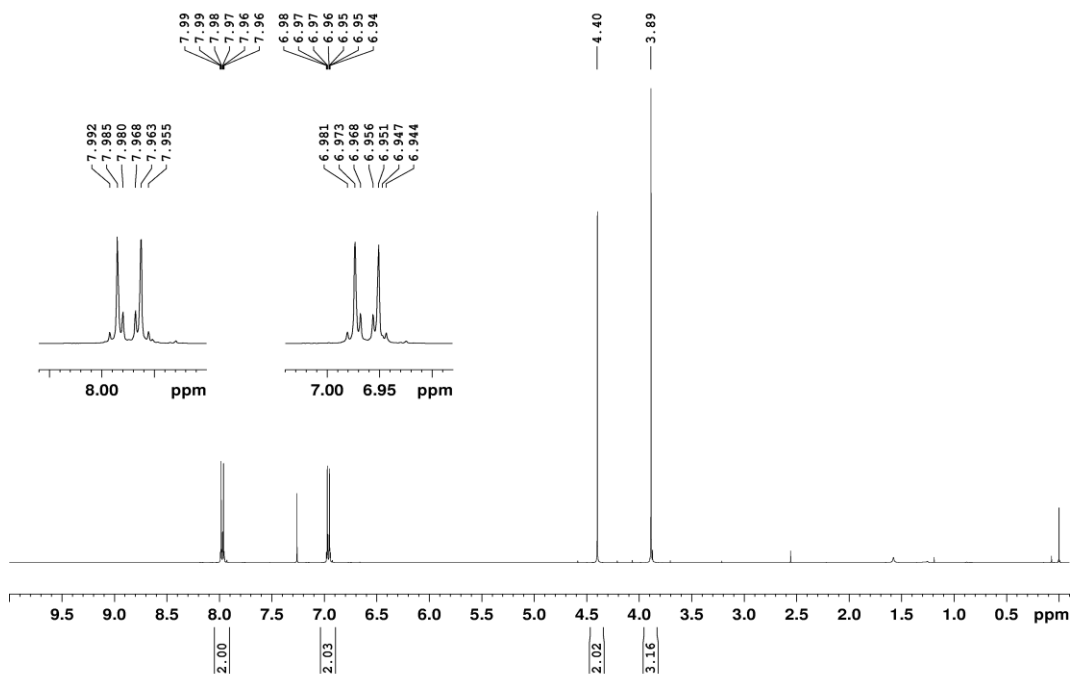


Taulukon 7 kokeen 3 tuoteseoksen kaasukromatogrammi

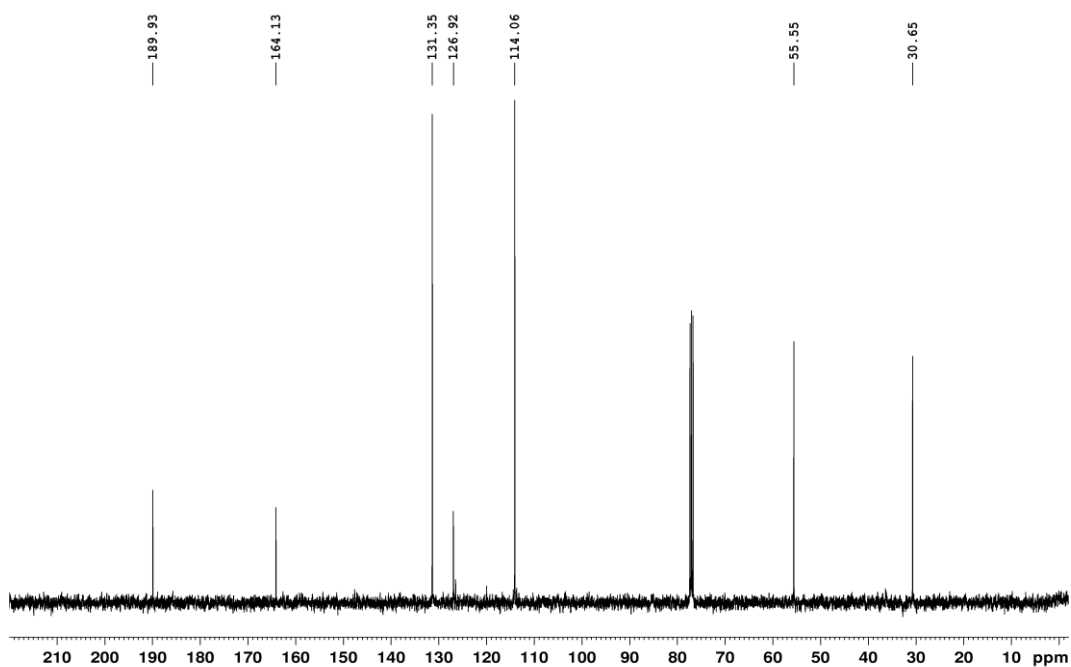


Liite 2. Yhdiste 87

Yhdisteen **87** ^1H NMR -spektri

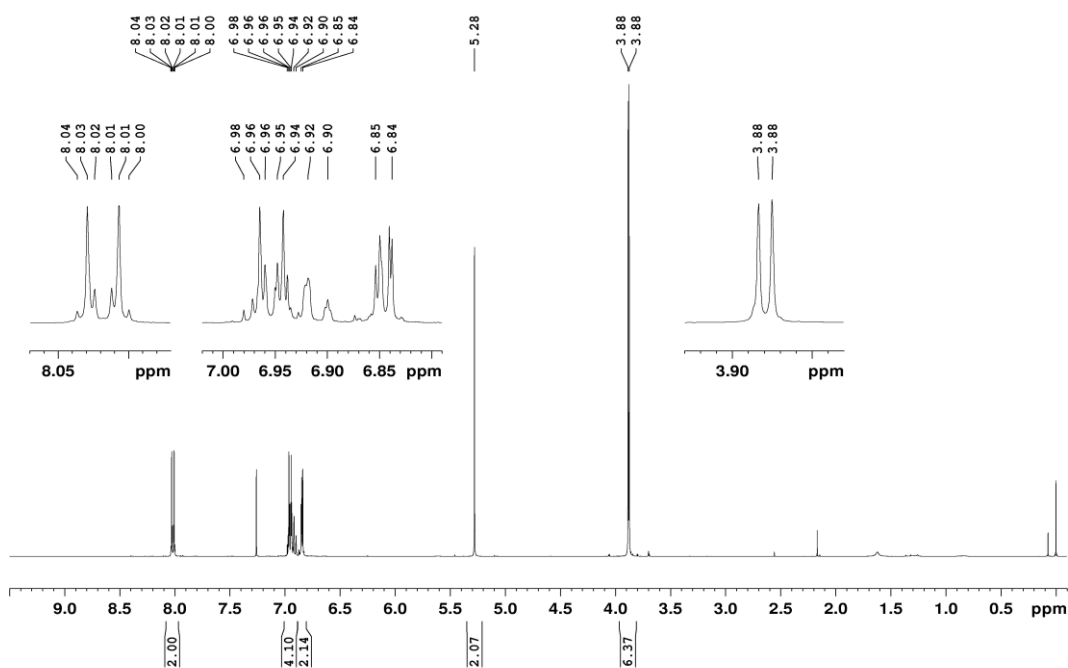


Yhdisteen **87** ^{13}C NMR -spektri

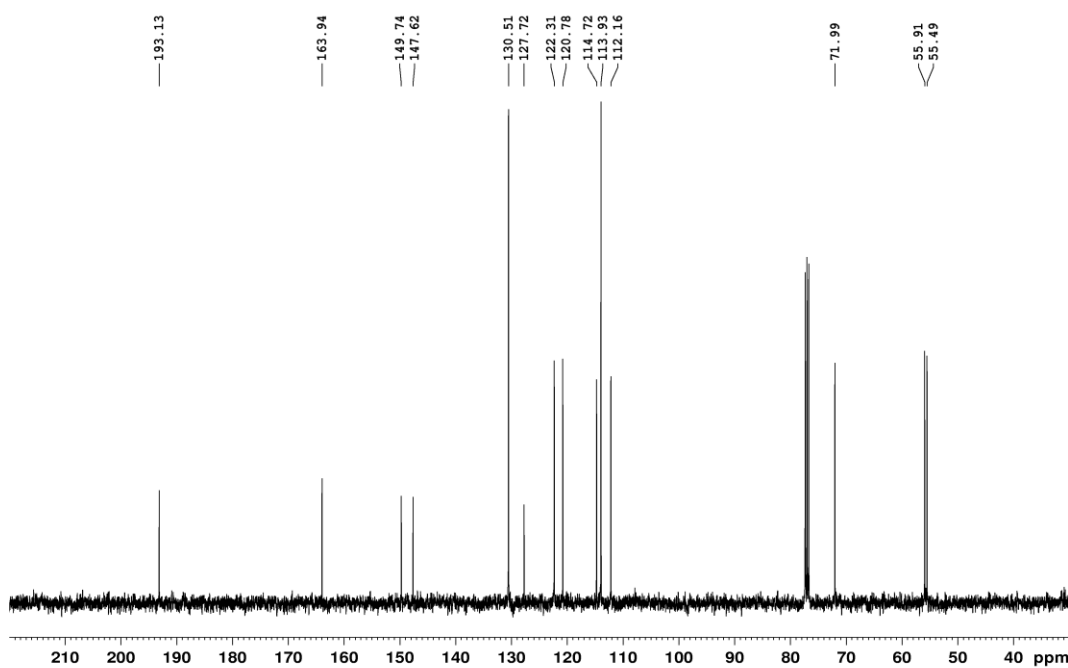


Liite 3. Yhdiste 88

Yhdisteen **88** ^1H NMR -spektri

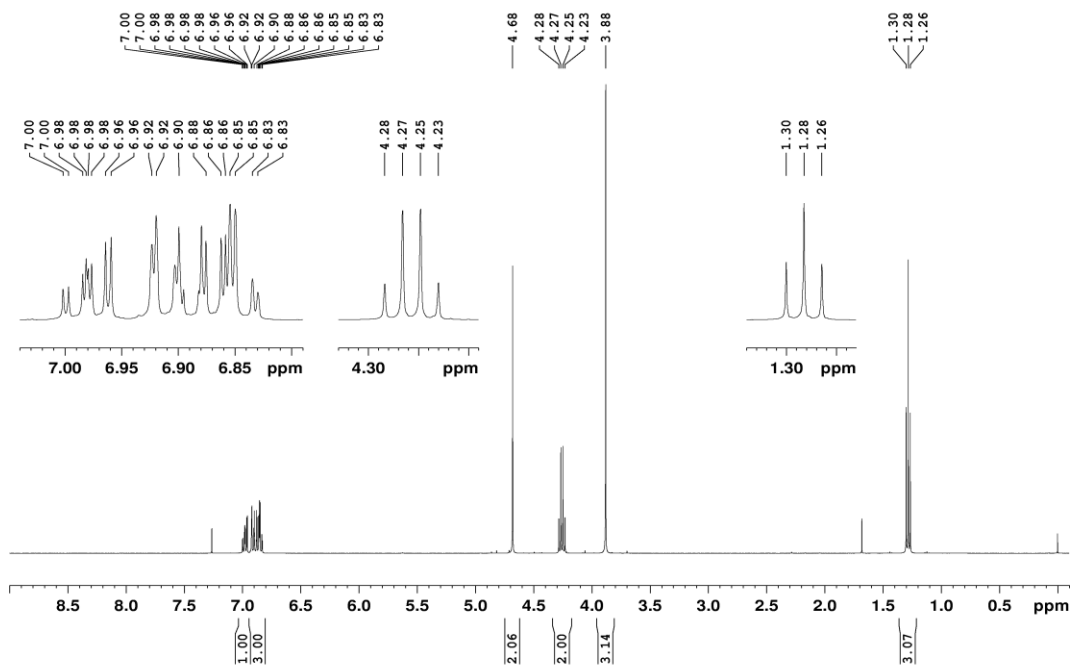


Yhdisteen **88** ^{13}C NMR -spektri

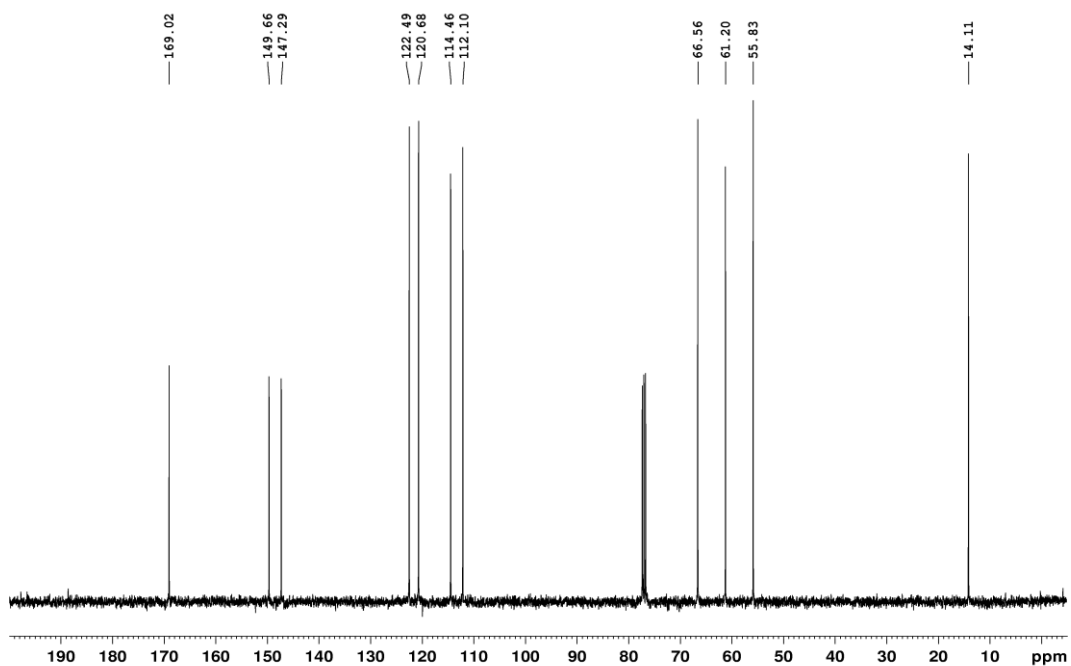


Liite 4. Yhdiste 91

Yhdisteen **91** ^1H NMR -spektri

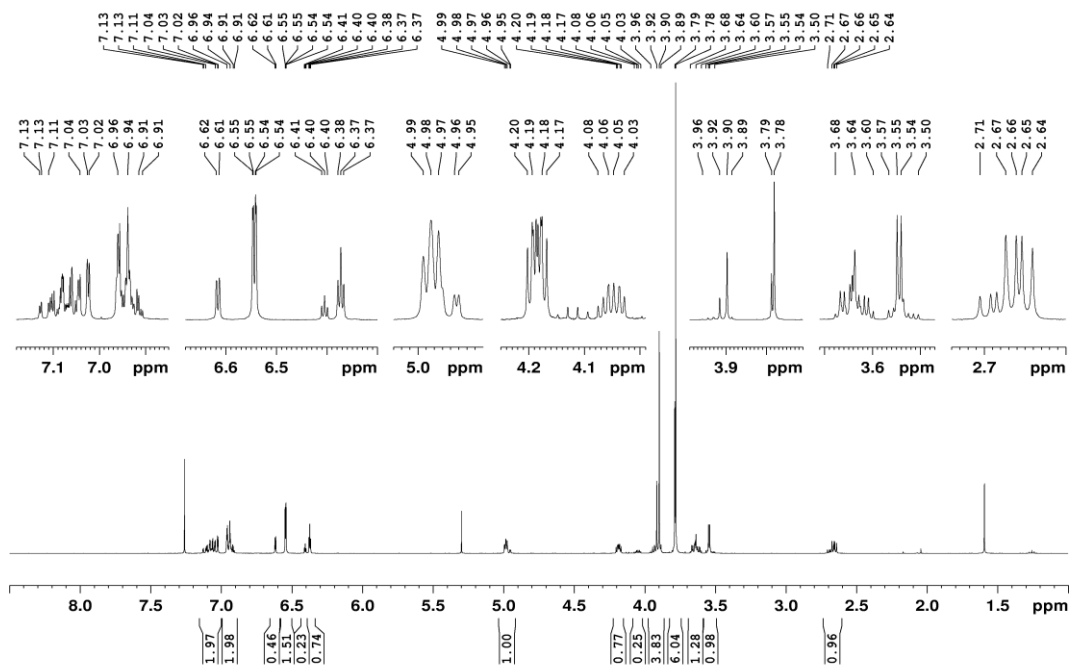


Yhdisteen **91** ^{13}C NMR -spektri

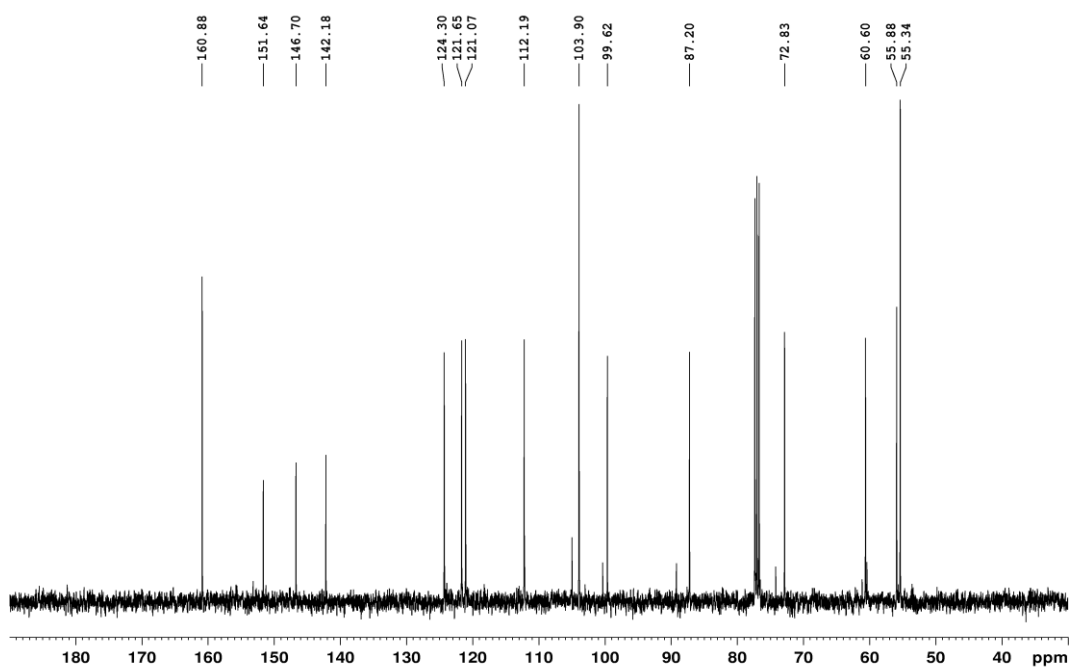


Liite 5. Yhdiste 53

Yhdisteen **53** ^1H NMR -spektri

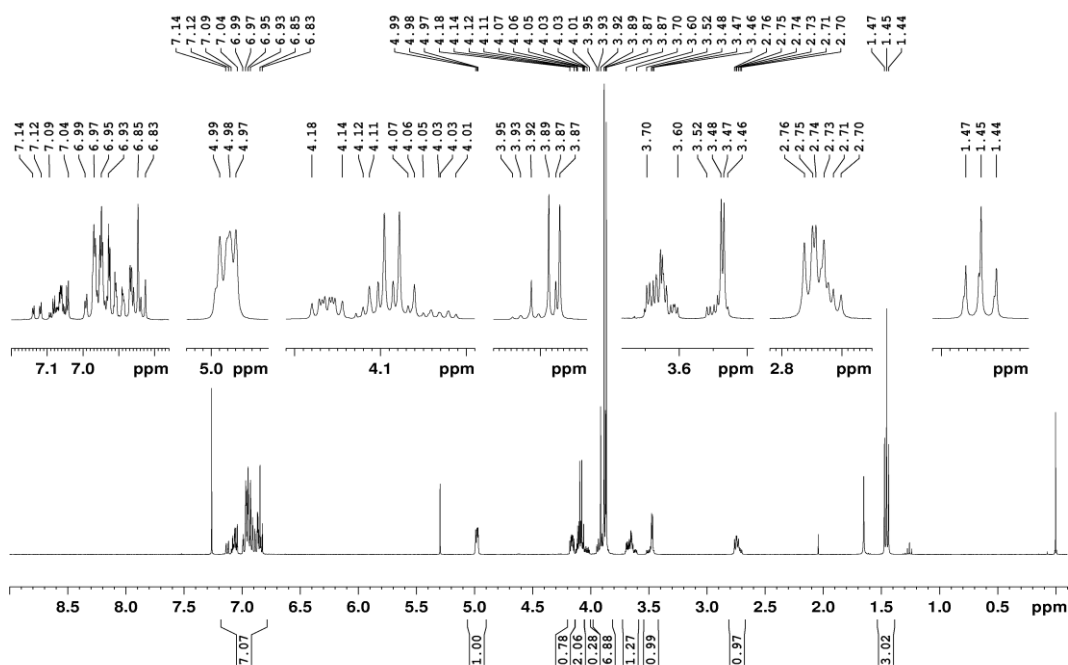


Yhdisteen **53** ^{13}C NMR -spektri

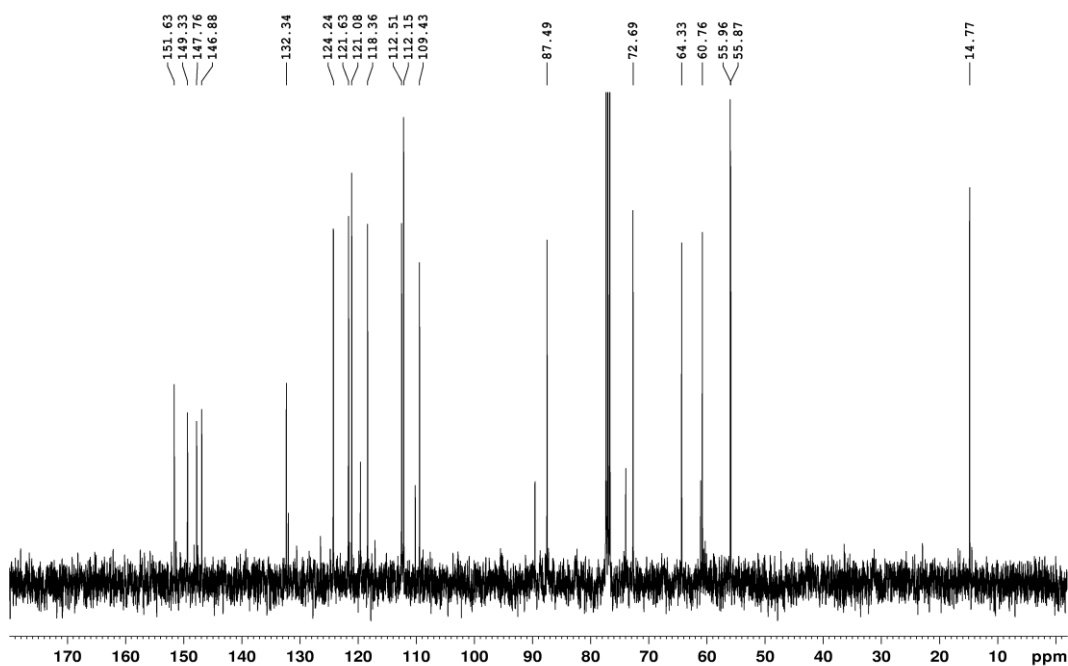


Liite 6. Yhdiste 64

Yhdisteen **64** ^1H NMR -spektri

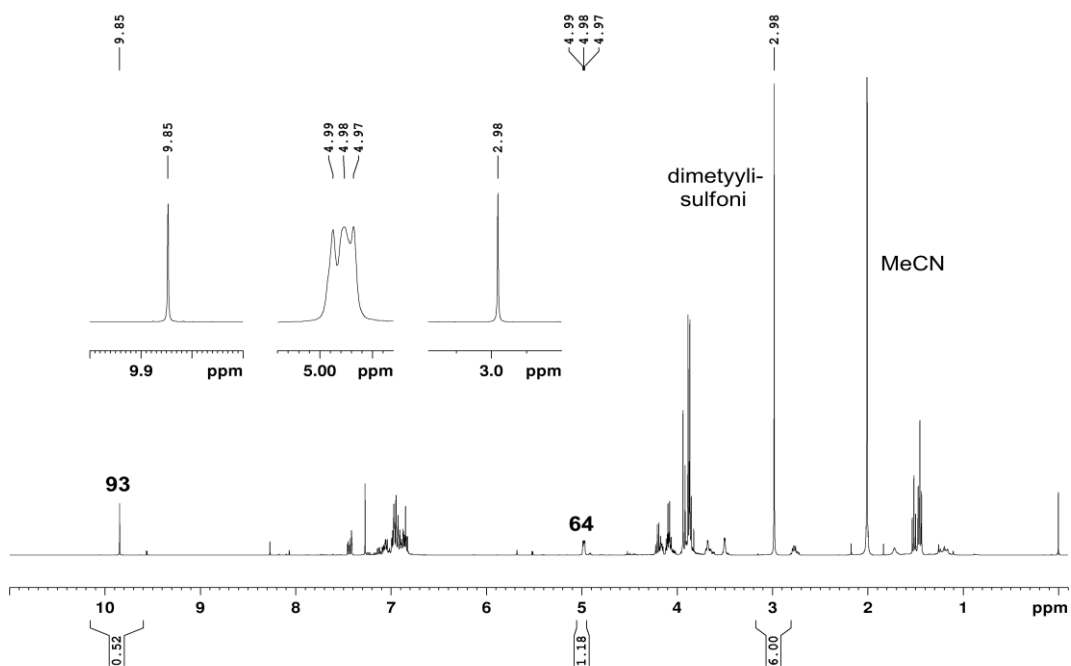


Yhdisteen **64** ^{13}C NMR -spektri



Liite 7. Taulukon 8 kokeen 12 ja taulukon 9 kokeen 4 tuoteseosten ^1H -spektrit

Taulukon 8 kokeen 12 tuoteseoksen ^1H NMR -spektri



Taulukon 9 kokeen 4 tuoteseoksen ^1H NMR -spektri

